



UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA

Evaluación de la fermentación acidoláctica de la masa para productos de panificación con inclusión de quinua (*Chenopodium quinoa Willd*)

Raquel Oriana Díaz Salcedo

Universidad Nacional de Colombia

Facultad de Ciencias

Bogotá, Colombia

2013

Evaluación de la fermentación acidoláctica de la masa para productos de panificación con inclusión de quinua (*Chenopodium quinoa Willd*)

Raquel Oriana Díaz Salcedo
Ingeniera Química

Tesis presentada como requisito para optar al título de:
Magister en Ciencia y Tecnología de Alimentos

Directora:
Ph.D. María Soledad Hernández Gómez

Línea de Investigación:
Ciencia y Tecnología de alimentos de origen vegetal – granos y semillas

Universidad Nacional de Colombia
Facultad de Ciencias
Bogotá, Colombia
2013

Página de aceptación

*Todo fluye en el camino de la menor
resistencia.*

Para mi familia que me ha hecho quién soy

Agradecimientos

Este trabajo de grado hace parte de los resultados obtenidos en el proyecto: “*Estrategias para el mejoramiento de las alternativas de transformación agroindustrial de la quinua (Chenopodium quinoa Willd)*” ejecutado por el Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos-ICTA de la Universidad Nacional de Colombia Sede Bogotá, cofinanciado por el convenio entre el Departamento Administrativo de Ciencia, Tecnología e Innovación de la República de Colombia-COLCIENCIAS y la Cámara de Comercio de Bogotá. Contrato interadministrativo 012-2010.

Un agradecimiento especial:

A la profesora Consuelo Díaz, y los ingenieros Jefferson Varón y Claudia Salazar, parte fundamental del equipo ejecutor del proyecto *Estrategias...*

Al personal del laboratorio de control de calidad fisicoquímico y la planta piloto de vegetales del ICTA.

Al profesor Orlando Martínez por su valiosa asesoría para el análisis estadístico de los datos.

Al profesor Néstor Algecira y el estudiante de posgrado en Ingeniería Química Felipe Vogelsang por su asesoría y colaboración en los ensayos de evaluación de propiedades reológicas en las masas ácidas.

A Marcela Carrillo, Juliana Cardona y Lorena Ordúz por su asesoría y colaboración para realizar las determinaciones de azúcares libres, ácidos orgánicos, fenoles totales y capacidad antioxidante.

A los profesores Rafael Gutiérrez de la Universidad Central de Venezuela y Eduardo Rodríguez de la Universidad Nacional de Colombia Sede Medellín por sus revisiones y comentarios que contribuyeron a la mejora de este trabajo.

A mi directora, María Soledad Hernández, por su valiosa orientación que a lo largo del camino siempre me permitió recordar que todo fluye en el camino de la menor resistencia.

Resumen

La presente investigación se llevó a cabo con el objetivo de determinar la influencia de la fermentación acidoláctica en las propiedades mecánicas de masas de quinua y las características de calidad de sus productos de panificación como sustituto parcial del trigo. Se evaluó la composición y comportamiento en la panificación de harinas de las variedades de quinua: Tunkahúan, Facianar Aurora y Blanca de Jericó; en sustituciones del 20, 40 y 60% de la harina de trigo. La variedad Facianar Aurora presentó la mejor aptitud tecnológica permitiendo obtener panes de buenas características nutricionales, y de volumen, color y textura con una sustitución máxima del 40%. La fermentación acidoláctica con tres cultivos iniciadores homofermentativos afectó la composición y disminuyó la resistencia a la deformación de masas de esta variedad. Tanto el cultivo iniciador como el porcentaje de adición de masa ácida tuvieron efecto en las características de calidad, nutricionales y sensoriales de los panes obtenidos.

Palabras clave: *pseudocereales, panificación, masa ácida, biodiversidad, cultivos subutilizados.*

Abstract

This research was made with the aim to determinate acidolactic fermentation influence on quinoa dough's mechanical properties and the quality characteristics of its breadmaking products as a wheat partial substitute. Composition and breadmaking performance of flours from the quinoa cultivars: Facianar Aurora, Blanca de Jericó and Tunkahúan were evaluated, with wheat substitutions of 20, 40 and 60%. Facianar Aurora showed the best breadmaking performance obtaining breads with good nutritional, volume, color and texture characteristics with a 40% maximum substitution. Acidolactic fermentation with three homofermentative commercial starters affected composition and reduced quinoa dough strain resistance. Starter culture and sourdough level in the batter showed a high influence on bread's quality, sensory and nutritional traits.

Keywords: *pseudocereals, breadmaking, sourdough, biodiversity, neglected crops.*

Contenido

	Pág.
Resumen	XI
Lista de figuras.....	XV
Lista de tablas	XVI
Lista de Símbolos y abreviaturas.....	XIX
Lista de ecuaciones	XXI
Introducción	1
1. Revisión: La masa ácida como alternativa para la panificación de quinua.	7
1.1 RESUMEN.....	7
1.2 INTRODUCCIÓN.....	7
1.3 LA MASA ÁCIDA	9
1.4 MICROORGANISMOS INVOLUCRADOS	11
1.5 EFECTOS DEL USO DE MASA ÁCIDA EN LA PANIFICACIÓN CON GRANOS LIBRES DE GLUTEN.....	13
1.6 CONCLUSIONES	18
1.7 REFERENCIAS	18
2. Caracterización de materias primas y estudio de formulación de panes con inclusión de quinua.....	25
2.1 INTRODUCCIÓN.....	25
2.2 MATERIALES Y MÉTODOS.....	28
2.3 RESULTADOS Y ANÁLISIS	34
2.4 CONCLUSIONES	45
2.5 REFERENCIAS	46
3. Masas ácidas de quinua obtenidas con iniciadores comerciales y su uso en panificación	51
3.1 INTRODUCCIÓN.....	51
3.2 MATERIALES Y MÉTODOS.....	52
3.3 RESULTADOS Y ANÁLISIS	60
3.4 CONCLUSIONES	85
3.5 REFERENCIAS	85

4. Conclusiones y recomendaciones	91
4.1 Conclusiones.....	91
4.2 Recomendaciones.....	92
 A. Anexo: Eigenvalores y eigenvectores para el análisis de componentes principales (PCA) de variables mecánicas y de textura de masas con diferentes porcentajes de inclusión de quinua de las variedades estudiadas.....	 93
 B. Anexo: Fichas técnicas de los cultivos acidolácticos comerciales utilizados como iniciadores para la elaboración de masas ácidas de quinua.....	 97
 Bibliografía	 107

Lista de figuras

Figura 1-1. Planta y grano de quinua.....	2
Figura 2-1. Diagrama de flujo. Proceso estandarizado para panificación con inclusión de quinua.	32
Figura 2-2. PCA de propiedades reológicas y texturales de masas con diferentes inclusiones de quinua.	39
Figura 2-3. Aspecto de panes, A: 100% trigo, y con sustituciones por harina de quinua Facianar Aurora B: 20%, C:40%, D: 60%	43
Figura 3-1. Cambio del pH durante la fermentación de masas de quinua con diferentes cultivos iniciadores.	60
Figura 3-2. Módulo complejo (Pa) como función de la frecuencia (Hz) para masas ácidas de quinua y masas de quinua y trigo sin fermentar.....	66
Figura 3-3. Tangente del ángulo de fase (δ) como función de la frecuencia (Hz) para masas ácidas de quinua y masas de quinua y trigo sin fermentar	67
Figura 3-4. Aspecto de panes obtenidos en ensayo de panificación con masas ácidas de quinua a partir de diferentes cultivos iniciadores	71
Figura 3-5. Prueba de Takao para actividad antioxidante de panes con masa ácida de quinua.	81

Lista de tablas

Tabla 1-1. Efecto de la masa ácida en propiedades de masas y panes	10
Tabla 1-2. Protocolos de producción de masa ácida	11
Tabla 2-1. Métodos empleados para análisis proximal	28
Tabla 2-2. Longitudes de onda empleadas para análisis de minerales por absorción atómica	28
Tabla 2-3 Variables medidas en análisis de masas trigo-quinua.	30
Tabla 2-4. Formulación de pan con inclusión de quinua	33
Tabla 2-5. Resultados de caracterización de harinas de quinua de las variedades Blanca de Jericó, Facianar Aurora y Tunkahuan y harina de trigo comercial	35
Tabla 2-6. Resultados para las variables más significativas de las propiedades mecánicas de masas con sustituciones de harina de trigo por harina de quinua	40
Tabla 2-7. Resultados de análisis instrumental de textura a panes con sustituciones de 20, 40 y 60% de quinua de las variedades Facianar Aurora (QA), Blanca de Jericó (QJ) y Tunkahuan (QT), control 100% trigo (TR100)	41
Tabla 2-8. Análisis instrumental de color de miga de panes con sustituciones de 20, 40 y 60% de quinua de las variedades Facianar Aurora (QA), Blanca de Jericó (QJ) y Tunkahuan (QT), control 100% trigo (TR100)	42
Tabla 2-9. Volumen específico (mL/g) de panes con sustituciones de 20, 40 y 60% de quinua de las variedades Facianar Aurora (QA), Blanca de Jericó (QJ) y Tunkahuan (QT), control 100% trigo (TR100)	44
Tabla 3-1. Composición de los tres (3) cultivos acidolácticos empleados en la preparación de masas ácidas de quinua	53
Tabla 3-2. Composición de las masas elaboradas para análisis y de los cultivos iniciadores utilizados	54

Tabla 3-3. Tratamientos de ensayo de panificación con masa ácida de quinua	56
Tabla 3-4. Escala hedónica de 5 puntos empleada para prueba de consumidores	59
Tabla 3-5. Cuantificación de azúcares y ácidos orgánicos en masa de quinua sin fermentar y masas ácidas obtenidas con diferentes con cultivos iniciadores.	62
Tabla 3-6. Contrastes para variables de composición entre masas ácidas de quinua obtenidas con diferentes cultivos iniciadores mediante el test de Scheffe	63
Tabla 3-7. Módulo complejo (G^* , Pa) y tangente del ángulo de fase para masas analizadas a 1Hz.	67
Tabla 3-8. Constantes de ajuste de los módulos viscoso y elástico a ecuaciones de ley de potencias.	68
Tabla 3-9. Análisis instrumental de textura de panes con masa ácida de quinua obtenida con diferentes cultivos iniciadores	72
Tabla 3-10. Contrastes para variables del análisis instrumental de textura entre panes con masa ácida de quinua obtenida con diferentes cultivos iniciadores mediante el test de Scheffe	72
Tabla 3-11. Volumen específico de panes con masa ácida de quinua obtenida con diferentes cultivos iniciadores	74
Tabla 3-12. Contrastes para volumen específico entre panes con masa ácida de quinua obtenida con diferentes cultivos iniciadores mediante el test de Scheffe	74
Tabla 3-13. Pérdida de humedad en la cocción de panes con masa ácida de quinua obtenida con diferentes cultivos iniciadores	75
Tabla 3-14. Contrastes para pérdida de humedad en la cocción entre panes con masa ácida de quinua obtenida con diferentes cultivos iniciadores mediante el test de Scheffe	76
Tabla 3-15. Color de corteza de panes con masa ácida de quinua obtenida con diferentes cultivos iniciadores	77
Tabla 3-16. Contrastes para color de corteza entre panes con masa ácida de quinua obtenida con diferentes cultivos iniciadores mediante el test de Scheffe	78
Tabla 3-17. Color de miga de panes con masa ácida de quinua obtenida con diferentes cultivos iniciadores	78

Tabla 3-18. Contrastes para color de miga entre panes con masa ácida de quinua obtenida con diferentes cultivos iniciadores mediante el test de Scheffe	79
Tabla 3-19. Fenoles totales de panes con masa ácida de quinua obtenida con diferentes cultivos iniciadores	80
Tabla 3-20. Contrastes fenoles totales entre panes con masa ácida de quinua obtenida con diferentes cultivos iniciadores mediante el test de Scheffe	80
Tabla 3-21. Evaluación sensorial de panes con masa ácida de quinua obtenida con diferentes cultivos iniciadores	82
Tabla 3-22. Composición proximal de panes con masa ácida de quinua obtenida con diferentes cultivos iniciadores	84

Lista de Símbolos y abreviaturas

Símbolos con letras latinas

Símbolo	Término	Unidad SI	Definición
V_{esp}	Volumen específico	mL/g	Ecuación 2-1
R	Rendimiento de masa		Ecuación 3-1
G^*	Módulo complejo	Pa	(Steffe, 1996) Ecuación 3-3
G'	Módulo elástico o de almacenamiento	Pa	(Steffe, 1996)
G''	Módulo viscoso o de pérdida	Pa	(Steffe, 1996)
a, b	Constantes de ajuste a ley de potencias		Ecuación 3-4
$\%phc$	Pérdida de humedad en la cocción		Ecuación 3-5
$\%A_c$	Aceptación de consumidores		Ecuación 3-6
LH100	Cultivo iniciador		
RA22	Cultivo iniciador		Tabla 3-1
BT02	Cultivo iniciador		

Símbolos con letras griegas

Símbolo	Término	Unidad SI	Definición
δ	Ángulo de fase	radianes	(Steffe 1996) Ecuación 3-2

Abreviaturas

Abreviatura Término

QA	Quinua variedad Facianar Aurora
QJ	Quinua variedad Blanca de Jericó
QT	Quinua variedad Tunkahúan
TR100	Trigo, tratamientos 100% trigo
PCA	Análisis de componentes principales
MQA	Masa de quinua variedad aurora
MTR	Masa de trigo
MALH	Masa ácida de quinua obtenida con cultivo LH100
MARA	Masa ácida de quinua obtenida con cultivo RA22
MABT	Masa ácida de quinua obtenida con cultivo BT02

Lista de ecuaciones

Ecuación 2-1. Cálculo de volumen específico de pan.....	34
Ecuación 3-1. Rendimiento de masa.	53
Ecuación 3-2. Relación de módulos viscoso y elástico mediante ángulo de fase	56
Ecuación 3-3. Relación lineal de módulos viscoso y elástico en módulo complejo	56
Ecuación 3-4. Ajuste de ley de potencias para módulos viscoso y elástico en función de la frecuencia.....	56
Ecuación 3-5. Relación de pérdida de humedad en la cocción para panes evaluados ..	58
Ecuación 3-6. Porcentaje de aceptación de consumidores para panes evaluados	59

Introducción

Una de las prioridades del milenio es la seguridad alimentaria, entendida como el estado alcanzado al contar con disponibilidad de alimentos en cantidades suficientes y de calidad adecuada para suplir las necesidades de una población determinada, acceso a estos y a los recursos para su consecución con estabilidad y utilización biológica a través de una alimentación apropiada, agua potable, sanidad y atención médica para lograr un estado de bienestar nutricional en el que se satisfagan todas las necesidades (FAO, 2006).

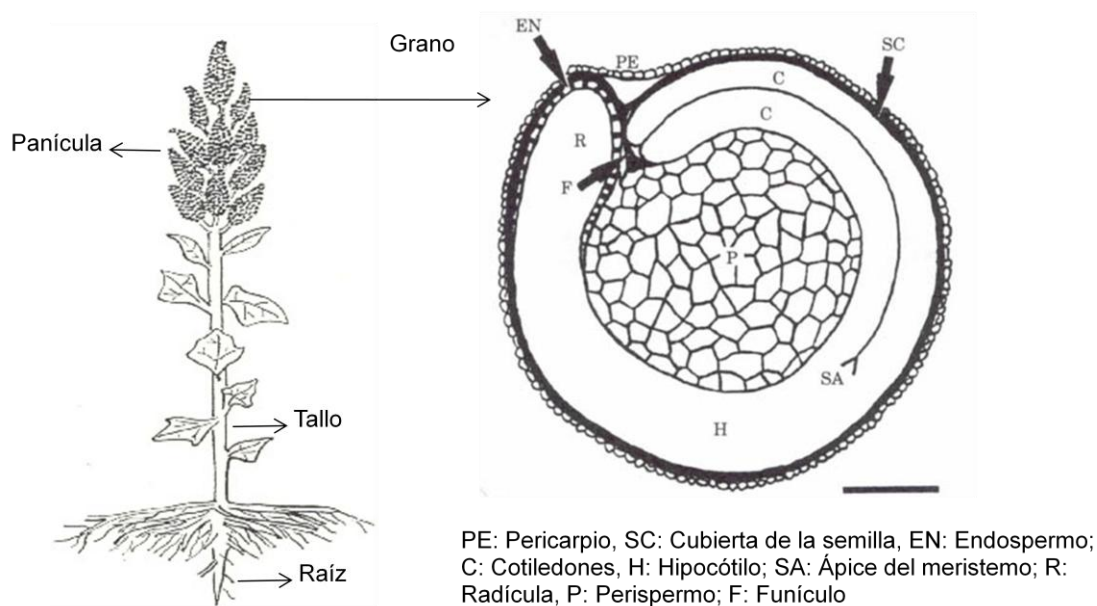
Garantizar la seguridad alimentaria es un asunto que merece atención desde los frentes social, político, económico, científico y tecnológico, siendo de mayor importancia para estos últimos el aseguramiento de la calidad de los productos alimenticios y la mejora de los procesos productivos y de transformación agroindustrial de materias primas que al contar con aptitud tecnológica, permitan obtener productos de alta calidad nutricional y fácil acceso para el consumidor.

En este contexto, estudios recopilados por la FAO (Tapia *et al.*, 2000; Mujica S. *et al.*, 2001) han destacado la importancia de los pseudocereales andinos como la quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd), la cañihua (*Chenopodium pallidicaule*) y el amaranto (*Amaranthus hypochondriacus*, *A. cruentus* y *A. caudatus*). Estos granos fueron cultivos alimenticios importantes para las civilizaciones prehispánicas, sin embargo su producción y uso declinó significativamente coincidiendo con el colapso de las culturas indígenas que siguió a la conquista española. Son plantas que se caracterizan por producir semillas ricas en almidón con composición y funcionalidad semejante a la de los cereales, pero estructuralmente diferentes por ser dicotiledóneas y no monocotiledóneas. A diferencia de los granos de cereales, en los pseudocereales andinos el embrión rodea el perispermo por lo que la fracción de salvado que es relativamente rica en grasa y proteína es más alta, lo que determina sus características nutricionales (Repo-Carrasco *et al.*, 2003; Bhargava *et al.*, 2006; Brady *et al.*, 2007; Schoenlechner *et al.*, 2008; Alvarez-Jubete *et al.*, 2010a; Kaur *et al.*, 2010).

A su vez, la soberanía alimenticia impone otro gran reto del siglo XXI, recuperar especies subutilizadas y la capacidad de propagarlas manteniendo la diversidad genética y la riqueza del uso de una gran cantidad de especies no tradicionales, se hace indispensable en nuestros trópicos andinos.

El género *Chenopodium* (familia Chenopodiaceae) comprende cerca de 250 especies, que incluyen plantas herbáceas, frutescentes y arborescentes perennes, aunque la mayoría de las especies se han domesticado para ser anuales. *Chenopodium quinoa* Willd (Figura 1-1), conocido comúnmente como quinua, es un pseudocereal con granos de 1 a 2.5 mm de diámetro que ha sido cultivado en la región andina por miles de años y que se encuentra distribuido en latitudes desde los 5°N en Colombia hasta los 40°S en Chile, comprendiendo países como Ecuador, Perú, Bolivia y el norte de Argentina. El desierto de Atacama constituye una barrera natural para la distribución del cultivo, que se reinicia más al sur en Chile; en altitudes que van desde el nivel del mar hasta los 3800 m. La planta muestra tolerancia a las heladas, salinidad, altura y sequía, y tiene la habilidad de crecer en suelos marginales, encontrándose cerca de 3000 variedades que se cultivan desde los 0 hasta los 3800 msnm. Recientemente se ha introducido en Europa, Norte América, Asia y África (Mujica S. *et al.*, 2001; Jacobsen *et al.*, 2003; Bhargava *et al.*, 2006; Brady *et al.*, 2007; Schoenlechner *et al.*, 2008).

Figura 1-1. Planta y grano de quinua



Modificado de: Mujica S. *et al.* (2001)

El uso de la quinua en la industria de alimentos puede impactar positivamente en la mitigación de la malnutrición y en la recuperación de la seguridad y soberanía alimentaria, especialmente en poblaciones desfavorecidas. El perfil nutricional de la quinua resulta promisorio por su alto contenido de carbohidratos, proteína cuya calidad biológica superior sobresale por un buen balance de aminoácidos esenciales y alta digestibilidad, fibra dietaria, minerales, almidón resistente, ácidos grasos poliinsaturados, vitaminas, flavonoides y otros compuestos bioactivos, con diferencias en la composición determinadas por factores como variedad genética, edad de maduración de la planta, localización del cultivo y fertilidad del suelo (Ruales & Nair, 1993a; Mujica S. *et al.*, 2001; Jacobsen & Sherwood, 2002; Jacobsen *et al.*, 2003; Repo-Carrasco *et al.*, 2003;

Bhargava *et al.*, 2006; Repo-Carrasco & Encina Zelada, 2008; Schoenlechner *et al.*, 2008; Delgado *et al.*, 2009; Alvarez-Jubete *et al.*, 2010a; Santos Calderelli *et al.*, 2010; Repo-Carrasco & Serna, 2011)

Investigaciones realizadas concluyen que los nutrientes de la quinua no están del todo disponibles, porque contiene sustancias que interfieren con su biodisponibilidad. Entre estas sustancias se encuentran ácido fítico, taninos, inhibidores de proteasa y saponinas, recibiendo estas últimas la mayor atención, por no encontrarse comúnmente en cereales o pseudocereales (Ruales & Nair, 1993b; Mujica S. *et al.*, 2001; Brady *et al.*, 2007).

Las saponinas son compuestos surfactantes de fuerte sabor amargo con una estructura que consiste de una aglicona esteroide o triterpenoide y una o más cadenas de azúcar. En la quinua están presentes en niveles significativos desde 0.03% hasta 2.05%, siendo clasificadas como dulces aquellas variedades con un contenido menor al 0.1% (Ward, 2000; Schoenlechner *et al.*, 2008). Debido a su sabor amargo, se realizan procesos de abrasión o extracción con agua para remover las capas externas de las semillas donde se concentran, lo cual afecta el contenido de vitaminas y minerales (Brady *et al.*, 2007; Alvarez-Jubete *et al.*, 2010b). Aunque por su actividad hemolítica y ligante de minerales se han considerado como compuestos antinutricionales, investigaciones recientes han mostrado que las saponinas pueden tener propiedades antiinflamatorias, anticarcinogénicas y disminuyentes de colesterol (Alvarez-Jubete *et al.*, 2010a; Man *et al.*, 2010), además de tener la habilidad de inducir cambios en la permeabilidad del intestino, lo cual ayuda en la absorción de algunos medicamentos (Bhargava *et al.*, 2006).

La quinua es considerada como un cultivo potencial por el sistema CELSS (siglas en inglés para sistemas ecológicos controlados de soporte de la vida) de la NASA, por su capacidad de captura de dióxido de carbono de la atmosfera y generación de asimilados, oxígeno y agua (Bhargava *et al.*, 2006). El cultivo tiene un carácter económico promisorio pues tanto el grano como las hojas y las inflorescencias son consumibles para alimentación animal y humana (Mujica S. *et al.* 2001; Kaur, Singh *et al.* 2010). En Colombia se encuentran a nivel comercial variedades dulces, como Facianar Aurora, Blanca de Jericó, Piartal y Tunkahúan (Delgado *et al.*, 2009).

Sin embargo, a pesar de su adaptabilidad a diversas condiciones agroecológicas y a sus características nutricionales únicas, la quinua es una especie subutilizada, con poco desarrollo tecnológico en lo referente a su agroindustrialización, haciendo necesaria la recuperación de este recurso mediante la generación de alternativas de procesamiento que sean viables tecnológica y económicamente, y que permitan la obtención de productos de consumo masivo, por ejemplo: productos horneados, granolas, pastas, bebidas y barras multicereales, aprovechando sus propiedades nutricionales y su aptitud tecnológica en procura de la seguridad alimentaria de nuestros países andinos.

Los productos horneados son los principales derivados de cereales disponibles para los consumidores y el pan es un alimento básico en más de la mitad de los países alrededor

del mundo (Veluppillai *et al.*, 2010). Los pseudocereales pueden tener propiedades de textura y nutricionales que los hacen apropiados para reemplazar, al menos en parte, los productos tradicionales con base en cereales (Coda *et al.*, 2010).

Debido a que la mayor fracción proteica de la quinua está representada por globulinas que no poseen los requisitos para conferir estabilidad a la masa en la panificación (Lamacchia *et al.*, 2010), esta representa un reto tecnológico. La presencia de gluten en el trigo permite el desarrollo de la estructura esponjosa característica del pan. La remoción del gluten en las formulaciones para panadería resulta a menudo en una pasta líquida en lugar de un sistema de masa durante la fase prehorneo, y puede resultar en un pan horneado con textura frágil, miga irregular, pobre color y otros defectos de calidad (Peressini *et al.*, 2011; Sakač *et al.*, 2011). La estructura tridimensional formada por el gluten es fundamental para las características mecánicas, de textura y distribución de la miga (Hüttner & Arendt, 2010), proveyendo buenas propiedades de retención de gas y viscoelasticidad a las masas (Dobraszczyk & Morgenstern, 2003).

Para superar las limitaciones causadas por un bajo o nulo contenido de gluten resultante de la sustitución parcial o total del uso de trigo en masas para panificación se han estudiado diferentes alternativas como la incorporación de hidrocoloides, emulsificantes o emulsionantes, proteínas, enzimas o masa ácida, buscando mejorar las propiedades de viscoelasticidad de la masa para obtener mejoras de la textura, palatabilidad, aceptabilidad y vida útil de estos productos (Arendt *et al.*, 2008; Onyango *et al.*, 2011b; Onyango *et al.*, 2011a; Peressini *et al.*, 2011).

En el presente estudio se evalúa la tecnología de masa ácida para la panificación con inclusión de quinua. La masa ácida es un producto intermedio que contiene microorganismos metabólicamente activos, generado a partir de una mezcla de harina, agua y opcionalmente sal, que se fermenta por bacterias acidolácticas y levaduras que se inoculan o pueden provenir principalmente de las harinas y los equipos de proceso (Gobetti *et al.*, 2008). El uso de masa ácida para la fermentación de masas para panificación es uno de los procesos biotecnológicos más antiguos utilizados en el procesamiento de alimentos (Poutanen *et al.*, 2009; Kopeć *et al.*, 2011). La masa ácida en mezclas libres de o con bajo contenido de gluten puede ser aplicada para modificar las características nutricionales, reológicas, texturales y de vida útil de las masas y panes (Moroni *et al.*, 2011).

Con el objetivo de formular combinaciones trigo-quinua con potencial nutricional y de buena aptitud tecnológica para el proceso de panificación se realizó la evaluación de composición y propiedades tecnológicas de harinas de quinua de tres variedades dulces: Blanca de Jericó, Facianar Aurora y Tunkahúan. En comparación con harina de trigo comercial para panificación, las harinas de quinua evaluadas presentaron mayores contenidos de minerales, fibra y grasa y contenidos comparables de carbohidratos y proteína. Posteriormente se estandarizó el proceso de panificación para elaboración de panes compuestos trigo-quinua de acuerdo a las características de la harina de quinua.

Se determinaron propiedades mecánicas de masas con diferentes porcentajes de sustitución de harina de trigo por harina de quinua de las tres variedades evaluadas y variables de calidad instrumental de los panes compuestos obtenidos de estas masas.

Para evaluar los efectos de la fermentación acidoláctica en las propiedades mecánicas de masas de quinua y de la inclusión de masas ácidas de quinua en la calidad de productos de panificación, se fermentaron masas de quinua de la variedad con la mejor aptitud tecnológica para la panificación, con tres cultivos iniciadores comerciales compuestos por diferentes mezclas de las bacterias acidolácticas homofermentativas: *Lactobacillus delbruekii*, *Lactobacillus helveticus*, *Lactococcus lactis* y *Streptococcus salivarius*. Durante el proceso de fermentación acidoláctica se consumieron y generaron metabolitos dependiendo del cultivo iniciador empleado y se produjeron cambios en las propiedades reológicas de las masas de quinua, que tuvieron efecto en las propiedades de calidad instrumental y sensorial de los panes de masa ácida obtenidos.

1.Revisión: La masa ácida como alternativa para la panificación de quinua.

1.1 RESUMEN

El uso de la quinua (*Chenopodium quinoa* Willd) en la industria de alimentos puede impactar positivamente en la mitigación de la malnutrición y en la recuperación de la seguridad y soberanía alimentaria en la población, e igualmente ofrece una gran oportunidad en el mercado de los productos funcionales por su alto contenido de compuestos bioactivos. La quinua pertenece a un grupo de especies denominadas pseudocereales, pues no son gramíneas y sus semillas presentan diferencias morfológicas con los granos de cereales, pero composición y aptitud tecnológica similar, lo que hace posible su procesamiento en productos similares a los obtenidos con cereales. Al ser el pan un producto de consumo masivo se ha generado interés en el estudio de la elaboración de panes con inclusión de harina de quinua, debido a su alto valor nutricional. La ausencia de gluten en este grano representa el principal reto tecnológico para su panificación, haciendo necesario el uso de tecnologías alternativas que permitan obtener masas y panes con características similares a aquellas debidas al gluten, una de estas tecnologías es el uso de masa ácida

PALABRAS CLAVE: pseudocereales, masa ácida, soberanía alimenticia, malnutrición, funcionalidad

1.2 INTRODUCCIÓN

La quinua es una planta que ha sido cultivada en la región andina por miles de años, siendo un alimento importante para las civilizaciones prehispánicas. Debido a que sus granos de 1 a 2.5 mm de diámetro son ricos en almidón, con composición y funcionalidad semejante a la de los cereales, pero estructuralmente diferentes por ser semillas dicotiledóneas y no monocotiledóneas, hace parte del grupo de los pseudocereales. A diferencia de los granos de cereales, en este pseudocereal el embrión rodea el perispermo por lo que la fracción de salvado que es relativamente rica en grasa y proteína es mayor, lo que determina sus características nutricionales (Repo-Carrasco et

al., 2003; Bhargava *et al.*, 2006; Brady *et al.*, 2007; Schoenlechner *et al.*, 2008; Alvarez-Jubete *et al.*, 2010; Kaur *et al.*, 2010).

La planta de quinua muestra tolerancia a las heladas, salinidad, altura y sequía, y tiene la habilidad de crecer en suelos marginales, encontrándose cerca de 3000 variedades. Está distribuida en latitudes desde los 5°N en Colombia hasta los 40°S en Chile, comprendiendo países como Ecuador, Perú, Bolivia y el norte de Argentina. El desierto de Atacama constituye una barrera natural para la distribución del cultivo, que se reinicia más al sur en Chile; en altitudes que van desde el nivel del mar hasta los 3800 m. Recientemente se ha introducido en Europa, Norte América, Asia y África (Mujica S. *et al.*, 2001; Jacobsen *et al.*, 2003; Bhargava *et al.*, 2006; Brady *et al.*, 2007; Schoenlechner *et al.*, 2008).

El uso de la quinua en la industria de alimentos puede impactar positivamente en la mitigación de la malnutrición y en la recuperación de la seguridad alimentaria en poblaciones desfavorecidas. El perfil nutricional de la quinua resulta promisorio por su alto contenido de carbohidratos, proteína cuya calidad biológica superior sobresale por un buen balance de aminoácidos esenciales y alta digestibilidad, fibra dietaria, minerales, almidón resistente, ácidos grasos poliinsaturados, vitaminas, flavonoides y otros compuestos bioactivos, con diferencias en la composición determinadas por factores como variedad genética, edad de maduración de la planta, localización del cultivo y fertilidad del suelo (Ruales & Nair, 1993a; Mujica S. *et al.*, 2001; Jacobsen & Sherwood, 2002; Jacobsen *et al.*, 2003; Repo-Carrasco *et al.*, 2003; Bhargava *et al.*, 2006; Repo-Carrasco & Encina Zelada, 2008; Schoenlechner *et al.*, 2008; Delgado *et al.*, 2009; Alvarez-Jubete *et al.*, 2010; Santos Calderelli *et al.*, 2010; Repo-Carrasco & Serna, 2011).

Los pseudocereales pueden tener propiedades de textura y nutricionales que los hacen apropiados para reemplazar, al menos en parte, los productos tradicionales con base en cereales (Coda *et al.*, 2010). Los productos horneados son los principales derivados de cereales disponibles para los consumidores y entre estos el pan es un alimento básico en la mayoría de los países alrededor del mundo (Veluppillai *et al.*, 2010; Sakač *et al.*, 2011), siendo fuente de nutrientes, especialmente carbohidratos, fibras, proteínas y algunos minerales como magnesio, fósforo y hierro (Kopeć *et al.*, 2011). La incorporación de granos enteros ricos en nutrientes en el pan es una forma promisorio de producir alternativas saludables de alimentos de consumo masivo, con mejoras en el contenido de fibra total y soluble, minerales y capacidad antioxidante en panes de trigo con adición de estos granos (Flander *et al.*, 2011; Alaunyte *et al.*, 2012).

El creciente interés en los beneficios de los productos de granos enteros, debido a que su consumo ha sido relacionado con una reducción en la incidencia de enfermedades crónicas como cáncer, enfermedades cardiovasculares, y diabetes, ha impulsado el desarrollo de productos horneados incorporando granos ancestrales subutilizados como

quinua, amaranto, millo, alforfón, sorgo y teff, ricos en compuestos con efectos conocidos sobre la salud humana, sin embargo, la adición de granos enteros puede tener efectos adversos en la calidad al causar variaciones en la estructura y perfil sensorial de los productos (Alaunyte *et al.*, 2012; Chlopicka *et al.*, 2012; Hager *et al.*, 2012; Zannini *et al.*, 2012).

El uso de harina de quinua para sustituir harina de trigo en la producción de pan, en proporciones que van del 12 al 40% de la harina ha mostrado efectos positivos en la calidad nutricional de los panes, debido a su aporte a la calidad de la proteína, menor contenido de ácidos grasos saturados, mayor contenido de minerales, folato, compuestos fenólicos y actividad antioxidante, con aceptación por parte de los consumidores (Santos Calderelli *et al.*, 2010; Schoenlechner *et al.*, 2010; Chlopicka *et al.*, 2012). La aptitud tecnológica de la quinua y otros granos ancestrales para la panificación se ve limitada por la ausencia de gluten, un material proteico cohesivo que confiere a la masa la capacidad de mantener gas producido por la levadura durante la fermentación, lo cual causa un aumento de volumen resultando en la típica miga abierta y estructura esponjosa del pan después del horneado (Arendt *et al.*, 2008; Lamacchia *et al.*, 2010; Alaunyte *et al.*, 2012).

1.3 LA MASA ÁCIDA

Para superar las limitaciones en la panificación causadas por un bajo contenido de gluten se han desarrollado diferentes alternativas como la incorporación de hidrocoloides, emulsificadores, proteínas, enzimas o masa ácida, que puedan mejorar las propiedades de viscoelasticidad de la masa y resulten en mejoras de la textura, palatabilidad, aceptabilidad y vida útil de los productos obtenidos (Arendt *et al.*, 2008; Onyango *et al.*, 2011b; Onyango *et al.*, 2011a; Peressini *et al.*, 2011).

La masa ácida es un producto intermedio que contiene microorganismos metabólicamente activos, generado a partir de una mezcla de harina, agua y opcionalmente sal, que se fermenta por bacterias acidolácticas y levaduras, que se inoculan o pueden provenir de las harinas y los equipos de proceso. El producto así obtenido se adiciona como ingrediente en formulaciones para panificación, en proporciones que van del 5 al 50% del total de la masa, con diferentes efectos en las propiedades de masas y panes de acuerdo a la harina, tipo de masa ácida y nivel de adición (Houben *et al.*, 2010; Flander *et al.*, 2011; Minervini *et al.*, 2011; Moroni *et al.*, 2011b; Alaunyte *et al.*, 2012).

Tabla 1-1. Efecto de la masa ácida en propiedades de masas y panes

PROPIEDAD	EFFECTOS	MECANISMOS DE ACCIÓN
Textura	Aumento del volumen del pan	Acidificación láctica Hidrólisis de almidón Hidrólisis de proteína Producción de Exopolisacáridos
	Decrecimiento de la resistencia a la extensión	
	Aumento de la extensibilidad y suavizamiento	
	Mejoramiento de la retención de gas	
Sabor y Aroma	Aumento de la síntesis de compuestos de sabor (ésteres, alcoholes, ácidos, aldehídos) Liberación de aminoácidos libres y sus derivados	Rutas energéticas Embden-Meyerhof-Parnas y fosfogluconato
		Uso de aceptores de electrones externos
		Reciclaje de cofactores de NADH
		Uso jerárquico y simultáneo de varias fuentes de energía
Nutrición	Mejoramiento de la textura y palatabilidad de pan enriquecido con fibra y grano entero. Estabilización o aumento de los niveles de varios compuestos bioactivos. Mejoramiento de la biodisponibilidad de minerales. Aumento de almidón resistente y decrecimiento del índice glicémico.	Interacción con enzimas endógenas y exógenas
		Proteólisis secundaria
		Catabolismo general de aminoácidos libres
		Ruta de arginina deiminasa
Vida útil	Decrecimiento de la tasa de enranciamiento y endurecimiento Actividad anti-endurecimiento Actividad anti-bacteriana Actividad anti-fúngica	Acidificación láctica
		Hidrólisis de almidón
		Síntesis de sustancias inhibidoras tipo bacteriocina
		Síntesis de reuteriicina de bajo peso molecular antibiótica
		Síntesis de metabolitos anti-fúngicos como ácidos acético, caproico, fenilactico y 4-hidroxifenilactico

Adaptado de: Hüttner & Arendt (2010) ; Zannini et al. (2012)

El uso de masa ácida como iniciador natural para la fermentación de masas para panificación es uno de los procesos biotecnológicos más antiguos utilizados en el procesamiento de alimentos (Poutanen *et al.*, 2009; Kopeć *et al.*, 2011; Zannini *et al.*, 2012). La masa ácida se empleaba para la panificación antes del descubrimiento de la levadura y su producción industrial (Angioloni *et al.*, 2006). Esta puede ser aplicada para modificar las características nutricionales, reológicas, texturales y de vida útil de las masas y panes libres de, o con bajo contenido de gluten (Tabla 1-1).

Generalmente se reconocen tres protocolos distintos de fermentación de masa ácida, con base en las condiciones de proceso y/o en la tecnología empleada para su producción, con una microbiota y actividad metabólica específica en cada tipo (Tabla 1-2). Las masas ácidas pueden requerir la adición de levadura *Saccharomyces cerevisiae* para leudar durante la panificación. Mientras que las masas ácidas tipo I y II se usan en forma líquida, la masa ácida tipo III se usa en forma de polvo, pues se obtiene al secar masas fermentadas por cultivos iniciadores específicos y se emplea como acidificador y portador de aroma (Gobetti *et al.*, 2008).

Tabla 1-2. Protocolos de producción de masa ácida

Tipo	Humedad final	Temperatura (°C)	Tiempo	pH final	Etapas metabólicas de microorganismos
I	Alta	20-30	24 h	4,0	Crecimiento exponencial
II	Alta	>30	2-5 días	<3,5	Estacionaria
III	Baja	En función del cultivo		3-4	Latente

Adaptado de: Gobetti, De Angelis *et al.* (2008)

1.4 MICROORGANISMOS INVOLUCRADOS

Estudios microbiológicos han revelado que más de 50 especies de bacterias acidolácticas pertenecientes principalmente a los géneros *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus* y *Weissella* y más, de 25 especies de levaduras, especialmente aquellas pertenecientes a los géneros *Saccharomyces* y *Candida* se encuentran en las masas ácidas naturales. En el caso de la fermentación espontánea las propiedades de la masa ácida dependen principalmente de la microflora de las materias primas. Para mejorar el control del proceso de fermentación incrementando el número de bacterias acidolácticas y limitando la posibilidad de crecimiento de organismos contaminantes, se recomienda la inoculación con iniciadores. Estos cultivos mezcla de bacterias acidolácticas y en ocasiones levaduras, son autoprotectores y autoregulados, mostrando mejores

respuestas a estrés medioambiental y producción de compuestos antimicrobianos, asegurando su alta competitividad en el medio de la masa ácida, además, por medio de la adición de iniciadores se puede apuntar a obtener características sensoriales especiales (Vermeulen *et al.*, 2006; Gänzle *et al.*, 2008; Gobetti *et al.*, 2008; Poutanen *et al.*, 2009; Vogelmann *et al.*, 2009; Kopeć *et al.*, 2011; Moroni *et al.*, 2011a; Ravyts & De Vuyst, 2011; Vogelmann & Hertel, 2011; Banu & Aprodu, 2012).

En las masas ácidas las bacterias acidolácticas dominan, en cantidades mayores a 10^8 ufc/g mientras que la cantidad de levaduras es de órdenes de magnitud menor en una proporción bacterias acidolácticas: levaduras cercana a 100:1, siendo la composición resultante de la microbiota determinada por factores endógenos como las interacciones entre microorganismos y la composición química y enzimática de la harina, y exógenos como la temperatura, potencial redox, rendimiento de la masa (hidratación), número de pasos de propagación y tiempo de la fermentación (Gobetti *et al.*, 2008; Weckx *et al.*, 2010; Vogelmann & Hertel, 2011; Banu & Aprodu, 2012).

Los productos de panadería elaborados completa o parcialmente de pseudocereales son interesantes por su perfil nutricional y para crear nuevas propiedades sensoriales; esto ha conducido a identificar los microorganismos propios de masas ácidas en base a estos para aislarlos con miras a su aplicación comercial (Sterr *et al.*, 2009; Weckx *et al.*, 2010; Moroni *et al.*, 2011a).

El éxito en la aplicación de masa ácida en panificación yace principalmente en la selección de bacterias acidolácticas y levaduras a ser usadas como iniciadores. Aquellos iniciadores empleados en la práctica industrial son compuestos por una mezcla de diferentes bacterias acidolácticas, de cepas seleccionadas por su capacidad de dominar la fermentación, sobreponerse a la contaminación y producir compuestos deseados durante la fermentación (Moroni *et al.*, 2011b). Se ha demostrado que los iniciadores de masa ácida comerciales diseñados para cereales que contienen gluten no son adecuados para la fermentación de matrices libres de gluten (Moroni *et al.*, 2010).

La quinua como sustrato de fermentaciones acidolácticas difiere de los cereales por la presencia de compuestos antimicrobianos como saponinas y taninos, un perfil de aminoácidos diferente al de los cereales, especialmente alto en lisina y treonina (Vogelmann *et al.*, 2009) un mayor contenido de grasa (Coda *et al.*, 2010), y un alto contenido de cenizas que puede actuar como amortiguador de pH (Arendt *et al.*, 2007; Rühmkorf *et al.*, 2012).

Las características de la quinua como sustrato para la fermentación acidoláctica afectan en alto grado el tipo de bacterias que son capaces de dominar la fermentación en este medio. A la fecha sólo se cuenta con un estudio de adaptabilidad de diferentes iniciadores de masa ácida a diferentes sustratos de cereales y pseudocereales, entre los que se encuentra la quinua. Dicho estudio determinó que para el caso particular de la

quinua, luego de inocular una mezcla de varios microorganismos aislados de masas ácidas o sus iniciadores, *Lactobacillus paralimentarius*, *L. fermentum*, *L. helveticus*, *L. plantarum*, *L. pontis*, *Saccharomyces cerevisiae* e *Issatchenkia orientalis* son los microorganismos predominantes en la masa ácida madura, siendo necesario ampliar el estudio de los factores de metabolismo de estos microorganismos que influyen positivamente su adaptabilidad a la quinua como sustrato (Vogelmann *et al.*, 2009).

1.5 EFECTOS DEL USO DE MASA ÁCIDA EN LA PANIFICACIÓN CON GRANOS LIBRES DE GLUTEN

El uso de masa ácida en panes de trigo y centeno tiene varios efectos bien documentados, incluyendo leudado, acidificación, mejora del aroma, retraso del endurecimiento y envejecimiento, estabilidad microbiológica, mejora de la biodisponibilidad de minerales y disminución del índice glicémico (Angioloni *et al.*, 2006).

En cuanto a las propiedades de masas y panes elaborados a partir de harina de trigo con sustituciones de harinas libres de gluten, y en productos estrictamente libres de gluten a partir de granos como sorgo, alforfón, amaranto, quinua, teff, garbanzo y sus combinaciones, la masa ácida también ha mostrado mejora de propiedades organolépticas y nutricionales.

Todos los efectos observados son dependientes de los microorganismos involucrados. Varios estudios recientes se centran en el impacto de diferentes cultivos iniciadores en la fermentación. Propiedades como acidificación, actividad enzimática, producción de compuestos antimicrobianos, aptitud tecnológica durante la panificación y el efecto de diferentes parámetros de la fermentación como pH y temperatura son elementos claves bajo investigación. Las propiedades tecnológicas de las masas resultantes son a menudo influenciadas por la harina y el tipo de cultivo empleado como iniciador (Ravyts & De Vuyst, 2011; Zannini *et al.*, 2012).

Una propiedad importante que influye las características de los panes es el comportamiento de la masa. En la panificación la masa experimenta un amplio rango de condiciones de estrés y tasas de tensión durante el procesamiento y horneado (Dobraszczyk & Morgenstern, 2003). La acidificación de la harina, generación de metabolitos y enzimas, hidrólisis de proteína y de almidón en las masas ácidas puede reemplazar la función del gluten mejorando las propiedades de hinchamiento de polisacáridos y beneficiando la estructura de productos en los que el exceso de trabajo mecánico en el amasado puede perjudicar la retención de gas (Arendt *et al.*, 2008; Gobetti *et al.*, 2008; Moroni *et al.*, 2009; Galle *et al.*, 2011; Moroni *et al.*, 2011b).

Al inicio del proceso de mezclado, algunos fenómenos físicos como la hidratación tienen lugar, la estructura de la masa se forma cuando las proteínas y los gránulos de almidón absorben agua (Angioloni *et al.*, 2006). La deficiencia de gluten significa que el ingrediente más importante para formar la estructura del pan es el almidón. Las propiedades funcionales del almidón dependen de varios factores como la capacidad de absorción de agua, el cultivar, la relación amilosa-amilopectina y su gelatinización, importantes en muchas aplicaciones alimenticias ya que determinan la textura y la palatabilidad (Witczak *et al.*, 2010; Mariotti *et al.*, 2011). La red creada por el almidón debe ser lo suficientemente grande para prevenir el escape de las burbujas de gas o su coalescencia durante la fermentación y horneado, pero suficientemente móvil para permitir que la masa aumente de tamaño (Onyango *et al.*, 2011b).

La planta de quinua tiene almidón distribuido en varias partes como carbohidrato de reserva encontrándose principalmente en los granos una variación importante en función de la variedad y el cultivar (Tapia *et al.*, 2000). El almidón de quinua presenta excelente estabilidad al congelamiento y retrogradación, mayor solubilidad, capacidad para ligar agua, y viscosidad que el almidón de cereales (Ahamed *et al.*, 1996; Bhargava *et al.*, 2006; Schoenlechner *et al.*, 2008; Araujo-Farro *et al.*, 2010), propiedades importantes dado que durante la preparación de la masa, el almidón absorbe hasta un 45% del agua formando la matriz de la masa que es una red continua de proteína y almidón, siendo el comportamiento mecánico influenciado por las propiedades específicas del gránulo pues debido a la combinación de calor, humedad y tiempo de horneado, estos se gelatinizan pero mantienen su identidad granular (Arendt *et al.*, 2008; Hüttner & Arendt, 2010).

Las propiedades del almidón de quinua pueden actuar sinérgicamente con los efectos de la fermentación acidoláctica en los parámetros que influyen en el comportamiento mecánico de las masas, como son la formación de geles de almidón más estables y la hidrólisis de proteínas, mejorando las características de los productos de panificación a partir de mezclas de harina de trigo con harina de quinua.

La acidificación de la masa puede tener un efecto importante sobre las propiedades del gluten en masas de trigo con sustituciones, favoreciendo la formación de una miga más estable y uniforme después del horneado, debido a un incremento en la suavidad y elasticidad de masas (Alaunyte *et al.*, 2012).

Una mayor gelatinización del almidón como consecuencia del proceso biológico de las bacterias acidolácticas permite el desarrollo de una estructura cuya viscosidad brinda la habilidad de formar películas elásticas en la interface gas-líquido por asociación de las moléculas, protegiendo la estabilidad de las burbujas de gas atrapadas en la masa (Peressini *et al.*, 2011). La proteólisis de proteínas solubles durante la fermentación de masa ácida permitió la formación de un gel de almidón más fuerte, el cual a su vez fue responsable de una mejora en la calidad de horneado de la harina de sorgo (Schober *et al.*, 2007). El uso de masas ácidas obtenidas a partir de diferentes iniciadores en masas de

amaranto influyó significativamente en las propiedades viscoelásticas, permitiendo mejorar las propiedades del amaranto al obtener masas con viscosidad y elasticidad similares a las de masas 100% trigo y estos efectos fueron dependientes de la cantidad de masa ácida adicionada y de la cepa empleada en la fermentación. (Houben *et al.*, 2010).

Se ha encontrado que al aplicar fermentación acidoláctica para obtener una masa ácida de una mezcla de alforfón, amaranto, garbanzo y quinua, el pan obtenido presenta mejores características de textura que aquel obtenido de la misma mezcla al utilizar fermentación únicamente con *Saccharomyces cerevisiae* y más cercanas a las de un pan de trigo control, obtenido por el método tradicional con la misma levadura (Coda *et al.*, 2010).

En masas ácidas de alforfón se ha observado hidrólisis extensiva de la fracción de globulina y liberación de pequeños polipéptidos. La hidrólisis de proteína y posiblemente del almidón fue responsable de un mayor decrecimiento en la elasticidad de la masa ácida. En las mezclas destinadas a panificación, la presencia de ácidos fue la mayor causa de una reducción en la elasticidad de la masa y un aumento de la fuerza, que puede ser relacionada con una mejora en la capacidad de retención de agua de las proteínas y/o los complejos proteína-almidón (Moroni *et al.*, 2011b).

Estos efectos benéficos no se pueden atribuir únicamente al descenso del pH en la masa. Se han reportado efectos adversos en la masa al usar controles acidificados químicamente al mismo pH de la masa ácida, como endurecimiento del gel de almidón en la cocción, responsable de un menor volumen y grano de miga irregular (Blanco *et al.*, 2011; Moroni *et al.*, 2011b).

Otros metabolitos producidos por las bacterias acidolácticas pueden tener un efecto importante en la panificación. Exopolisacáridos producidos por bacterias acidolácticas durante la fermentación de masa ácida a partir de sacarosa y otros azúcares pueden mejorar las propiedades tecnológicas de panes libres de gluten y potencialmente reemplazar el uso de hidrocoloides (Galle *et al.*, 2011; Galle *et al.*, 2012).

Los exopolisacáridos mejoran las propiedades reológicas de las masas y la textura del pan. Las bacterias acidolácticas producen una gran variedad de exopolisacáridos cuyas propiedades varían dependiendo de su estructura química, masa molecular y forma. Estos se dividen en homopolisacáridos y heteropolisacáridos. Los heteropolisacáridos están compuestos por unidades irregulares repetitivas, y aunque presentan una influencia en la reología de masas para productos horneados, hasta la fecha, sólo los homopolisacáridos, formados por unidades regulares han mostrado utilidad en aplicaciones industriales de productos horneados. Estos son glucanos o fructanos formados a partir de sacarosa y otros azúcares por enzimas gluco o fructosiltransferasas.

Estas enzimas también forman glucooligosacáridos (GOS) y fructooligosacáridos (FOS) en la presencia de azúcares aceptores. (Galle *et al.*, 2012; Rühmkorf *et al.*, 2012).

La sacarosa no solo permite la formación de homopolisacáridos, también afecta la formación de ácidos orgánicos, pues la formación de exopolisacáridos a partir de sacarosa resulta en metabolitos como manitol, glucosa y acetato, por tanto en la formulación de masas ácidas debe mantenerse bajo el contenido de sacarosa pues puede generarse suficiente ácido acético para afectar negativamente el sabor y volumen del pan (Galle *et al.*, 2012; Rühmkorf *et al.*, 2012). La habilidad de formar exopolisacáridos sin adición de sacarosa y subsecuente menor formación de acetato hace a las bacterias acidolácticas que forman heteropolisacáridos, como *Lactococcus lactis*, candidatos útiles para la fermentación de masa ácida (Galle *et al.*, 2011).

La formación de exopolisacáridos depende de la microflora establecida y las relaciones con el sustrato, por tanto se ve afectada por las características de la harina y la cantidad de azúcares disponibles. En una masa ácida la concentración de microorganismos debe ser tal que no sea necesario consumir sacarosa para producir biomasa, adicionalmente las harinas deben favorecer el proceso, la harina de quinua presenta una buena capacidad de buffer en fermentaciones de masa ácida que resulta en buena producción de exopolisacáridos (Rühmkorf *et al.*, 2012).

La formación in situ de exopolisacáridos en masa ácidas ha sido más efectiva que la adición externa. Exopolisacáridos formados durante la fermentación de sorgo fueron responsables de un descenso significativo en la fuerza y elasticidad de la masa. El aumento de la liberación de glucosa y fructosa a partir de la sacarosa durante la fermentación mejoraron la producción de CO₂ de la levadura. También enmascararon el efecto de los ácidos orgánicos llevando a una miga más suave en el pan fresco y disminuyendo la tasa de endurecimiento de la miga (Galle *et al.*, 2012).

La masa ácida afecta también el gusto del pan debido a que la actividad de bacterias acidolácticas y levaduras produce un amplio rango de compuestos químicos, aumentando la acidificación, la actividad enzimática endógena y microbiana en la masa, y la oxidación y reacciones térmicas de los lípidos durante el horneado. Aunque las bacterias acidolácticas producen menos compuestos activos de sabor que las levaduras, ambos son capaces de consumir aminoácidos libres. Dado que se ha mostrado que ciertos productos metabólicos son dependientes del cultivo, el gusto del producto final dependerá de los compuestos de sabor y aroma o sus precursores que son generados por la microbiota presente (Ravyts & De Vuyst, 2011).

Adicionalmente los panes de masa ácida tienen un mejor perfil nutricional que panes elaborados con proteínas o hidrocoloides (Arendt *et al.*, 2011; Zannini *et al.*, 2012). La masa ácida es conocida por tener un efecto nutricional positivo en términos del aumento de la biodisponibilidad de nutrientes, actividad antioxidante, estabilidad de vitaminas,

reducción de la insulina y glucosa postprandial, posible efecto prebiótico y generación de compuestos bioactivos (Katina *et al.*, 2005; Poutanen *et al.*, 2009; Alaunyte *et al.*, 2012; Delcour *et al.*, 2012).

La masa ácida mejora la composición de panes incrementando compuestos funcionales como aminoácidos libres, especialmente lisina, considerado como limitante en la harina de trigo y el contenido de ácido γ -aminobutírico (AGAB), un aminoácido funcional no proteico que aumenta debido probablemente a la actividad enzimática de las bacterias acidolácticas (Coda *et al.*, 2010; Rizzello *et al.*, 2012).

En cuanto a la actividad biológica de panes, una mejora de las propiedades reológicas permite la incorporación de materias primas con alto contenido de fibra y de compuestos fenólicos como son las harinas de granos enteros, adicionalmente la acidificación láctica mejora la extracción de fenoles de estas fracciones de salvado (Alaunyte *et al.*, 2012; Banu & Aprodu, 2012; Rieder *et al.*, 2012).

Los ácidos orgánicos también han mostrado un rol en las respuestas de glicemia postprandial. Los ácidos acético, propiónico y láctico tienen la habilidad de disminuir las respuestas de glucosa e insulina postprandial en sangre cuando son incluidos en panes, posiblemente debido a una disminución en la tasa de desocupamiento gástrico por el aumento en la firmeza del pan y a una disminución de la tasa de digestión de almidón debida a interacciones entre el almidón y el gluten en presencia de calor que son promovidas por la presencia de ácido (Katina *et al.*, 2005).

El consumo de granos enteros y panes de masa ácida está asociado con una mejora en la homeostasis de la glucosa (Mofidi *et al.*, 2012). Se ha demostrado que al leudar pan de trigo con masa ácida se mejora la respuesta a la glucosa en sujetos sanos. Panes de masa ácida mostraron una respuesta glicémica significativamente más baja y mayor contenido de almidón resistente que productos con la misma formulación leudados con *Saccharomyces cerevisiae* (Scazzina *et al.*, 2009). Pan de masa ácida de trigo entero resultó en las más baja respuesta de glucosa postprandial e insulina en sujetos resistentes a la insulina (Delcour *et al.*, 2012).

El uso de masa ácida en panes de arroz, papa, maíz y alforfón mostró un descenso significativo en el Índice Glicémico (IG), sin embargo sólo los panes con más del 15% de masa ácida mostraron un IG bajo (52-54), en estos niveles de adición la masa ácida también afectó positivamente parámetros de calidad con un mayor volumen específico y menor firmeza de la miga y endurecimiento (Novotni *et al.*, 2012).

Investigaciones realizadas concluyen que los nutrientes de la quinua no están del todo disponibles, porque contiene sustancias que interfieren con su utilización biológica. Entre estas sustancias se encuentran ácido fítico, taninos, inhibidores de proteasa y saponinas (Ruales & Nair, 1993b; Mujica S. *et al.*, 2001; Brady *et al.*, 2007).

La fermentación acidoláctica muestra una mejora en las características nutricionales y sensoriales induciendo la degradación de compuestos antinutricionales presentes en harinas de pseudocereales (Moroni *et al.*, 2011b). La biodisponibilidad de minerales se ve aumentada porque la actividad de las bacterias acidolácticas genera fitasas y además la disminución de pH activa fitasas endógenas de las harinas (Frontela *et al.*, 2011; Rizzello *et al.*, 2012).

La masa ácida también favorece la digestibilidad de las proteínas, limitando el efecto negativo de la adición de fibra, posiblemente por la proteólisis y por la inactivación de algunos factores antinutricionales como los inhibidores de tripsina (Rizzello *et al.*, 2012). Adicionalmente se han determinado posibles efectos benéficos en la degradación de micotoxinas, siendo necesarios más estudios (Arendt *et al.*, 2011; Zannini *et al.*, 2012).

1.6 CONCLUSIONES

A pesar de su potencial agroecológico y nutricional, la aptitud tecnológica de la quinua para elaboración de productos de consumo masivo como el pan, y por tanto su utilización en una cadena de valor, tiene un reto en la ausencia de gluten. La masa ácida es una tecnología recientemente estudiada en panificación con granos libres de gluten, con resultados prometedores en cuanto a la calidad sensorial y nutricional y vida útil de los productos obtenidos. Lo anterior, genera un potencial para la investigación en ciencia y tecnología de alimentos en el marco del mejoramiento de alternativas de transformación agroindustrial de los pseudocereales andinos y especialmente aquellos de cultivares Colombianos, para obtener productos de calidad nutricional superior y con características similares a las de productos de panificación de cereales como el trigo, con un posible impacto positivo en la seguridad y soberanía alimentaria.

1.7 REFERENCIAS

- Ahamed N. T., Singhal R. S., Kulkarni P. R., Kale D. D. & Pal M. (1996). "Studies on *Chenopodium quinoa* and *Amaranthus paniculatus* starch as biodegradable fillers in LDPE films." Carbohydrate Polymers **31**(3): 157-160.
- Alaunyte I., Stojceska V., Plunkett A., Ainsworth P. & Derbyshire E. (2012). "Improving the quality of nutrient-rich Teff (*Eragrostis tef*) breads by combination of enzymes in straight dough and sourdough breadmaking." Journal of Cereal Science **55**(1): 22-30.
- Alvarez-Jubete L., Arendt E. K. & Gallagher E. (2010). "Nutritive value of pseudocereals and their increasing use as functional gluten-free ingredients." Trends in Food Science & Technology **21**(2): 106-113.

- Angioloni A., Romani S., Pinnavaia G. & Rosa M. (2006). "Characteristics of bread making doughs: influence of sourdough fermentation on the fundamental rheological properties." European Food Research and Technology **222**(1): 54-57.
- Araujo-Farro P. C., Podadera G., Sobral P. J. A. & Menegalli F. C. (2010). "Development of films based on quinoa (*Chenopodium quinoa*, Willdenow) starch." Carbohydrate Polymers **81**(4): 839-848.
- Arendt E. K., Moroni A. & Zannini E. (2011). "Medical nutrition therapy: Use of sourdough lactic acid bacteria as a cell factory for delivering functional biomolecules and food ingredients in gluten free bread." Microbial Cell Factories **10**(SUPPL. 1).
- Arendt E. K., Morrissey A., Moore M. M. & Dal Bello F. (2008). Gluten-Free breads. Gluten-Free Cereal Products and Beverages. E. Arendt & F. Dal Bello, Elsevier. **289-319**.
- Arendt E. K., Ryan L. A. M. & Dal Bello F. (2007). "Impact of sourdough on the texture of bread." Food Microbiology **24**(2): 165-174.
- Banu I. & Aprodu I. (2012). "Studies concerning the use of *Lactobacillus helveticus* and *Kluyveromyces marxianus* for rye sourdough fermentation." European Food Research and Technology **234**(5): 769-777.
- Bhargava A., Shukla S. & Ohri D. (2006). "Chenopodium quinoa--An Indian perspective." Industrial Crops and Products **23**(1): 73-87.
- Blanco C. A., Ronda F., Pérez B. & Pando V. (2011). "Improving gluten-free bread quality by enrichment with acidic food additives." Food Chemistry **127**(3): 1204-1209.
- Brady K., Ho C.-T., Rosen R. T., Sang S. & Karwe M. V. (2007). "Effects of processing on the nutraceutical profile of quinoa." Food Chemistry **100**(3): 1209-1216.
- Coda R., Rizzello C. G. & Gobbetti M. (2010). "Use of sourdough fermentation and pseudo-cereals and leguminous flours for the making of a functional bread enriched of [gamma]-aminobutyric acid (GABA)." International Journal of Food Microbiology **137**(2-3): 236-245.
- Chlopicka J., Pasko P., Gorinstein S., Jedryas A. & Zagrodzki P. (2012). "Total phenolic and total flavonoid content, antioxidant activity and sensory evaluation of pseudocereal breads." LWT - Food Science and Technology **46**: 548-555.
- Delcour J. A., Rouau X., Courtin C. M., Poutanen K. & Ranieri R. (2012). "Technologies for enhanced exploitation of the health-promoting potential of cereals." Trends in Food Science & Technology **25**(2): 78-86.

- Delgado A. I., Palacios J. H. & Betancourt G. C. (2009). "Evaluación de 16 genotipos de quinua dulce (*Chenopodium quinoa* Willd) en el municipio de Iles, Nariño (Colombia)." Agronomía Colombiana **27**(2): 159-167.
- Dobraszczyk B. J. & Morgenstern M. P. (2003). "Rheology and the breadmaking process." Journal of Cereal Science **38**(3): 229-245.
- Flander L., Suortti T., Katina K. & Poutanen K. (2011). "Effects of wheat sourdough process on the quality of mixed oat-wheat bread." LWT - Food Science and Technology **44**(3): 656-664.
- Frontela C., Ros G. & Martínez C. (2011). "Phytic acid content and "in vitro" iron, calcium and zinc bioavailability in bakery products: The effect of processing." Journal of Cereal Science **54**(1): 173-179.
- Galle S., Schwab C., Arendt E. K. & Gänzle M. G. (2011). "Structural and rheological characterisation of heteropolysaccharides produced by lactic acid bacteria in wheat and sorghum sourdough." Food Microbiology **28**(3): 547-553.
- Galle S., Schwab C., Dal Bello F., Coffey A., Gänzle M. G. & Arendt E. K. (2012). "Influence of in-situ synthesized exopolysaccharides on the quality of gluten-free sorghum sourdough bread." International Journal of Food Microbiology **155**(3): 105-112.
- Gänzle M. G., Loponen J. & Gobetti M. (2008). "Proteolysis in sourdough fermentations: mechanisms and potential for improved bread quality." Trends in Food Science & Technology **19**(10): 513-521.
- Gobetti M., De Angelis M., Di Cagno R. & Rizzello C. G. (2008). Sourdough / lactic acid bacteria. Gluten-Free Cereal Products and Beverages. E. K. Arendt & F. Del Bello, Elsevier.
- Hager A.-S., Wolter A., Jacob F., Zannini E. & Arendt E. K. (2012). "Nutritional properties and ultra-structure of commercial gluten free flours from different botanical sources compared to wheat flours." Journal of Cereal Science **56**(2): 239-247.
- Houben A., Götz H., Mitzscherling M. & Becker T. (2010). "Modification of the rheological behavior of amaranth (*Amaranthus hypochondriacus*) dough." Journal of Cereal Science **51**(3): 350-356.
- Hüttner E. K. & Arendt E. K. (2010). "Recent advances in gluten-free baking and the current status of oats." Trends in Food Science & Technology **21**(6): 303-312.
- Jacobsen E. E. & Sherwood S. (2002). Cultivo de granos andinos en Ecuador, FAO, CIP & CRS.

- Jacobsen S., Mujica A. & Ortiz R. (2003). "La Importancia de los cultivos andinos." Fermentum **13**(36): 14-24.
- Katina K., Arendt E., Liukkonen K. H., Autio K., Flander L. & Poutanen K. (2005). "Potential of sourdough for healthier cereal products." Trends in Food Science & Technology **16**(1-3): 104-112.
- Kaur S., Singh N. & Rana J. C. (2010). "*Amarantus hyupochondriacus* and *Amaranthus caudatus* germplasm: Characteristics of plants, grains and flours." Food Chemistry **123**: 1227-1234.
- Kopeć A., Pysz M., Borczak B., Sikora E., Rosell C. M., Collar C. & Sikora M. (2011). "Effects of sourdough and dietary fibers on the nutritional quality of breads produced by bake-off technology." Journal of Cereal Science **54**(3): 499-505.
- Lamacchia C., Chillo S., Lamparelli S., Suriano N., La Notte E. & Del Nobile M. A. (2010). "Amaranth, quinoa and oat doughs: Mechanical and rheological behaviour, polymeric protein size distribution and extractability." Journal of Food Engineering **96**(1): 97-106.
- Mariotti M., Iametti S., Cappa C., Rasmussen P. & Lucisano M. (2011). "Characterisation of gluten-free pasta through conventional and innovative methods: Evaluation of the uncooked products." Journal of Cereal Science **53**(3): 319-327.
- Minervini F., Pinto D., Di Cagno R., De Angelis M. & Gobbetti M. (2011). "Scouting the application of sourdough to frozen dough bread technology." Journal of Cereal Science **54**(3): 296-304.
- Mofidi A., Ferraro Z. M., Stewart K. A., Tulk H. M. F., Robinson L. E., Duncan A. M. & Graham T. E. (2012). "The Acute Impact of Ingestion of Sourdough and Whole-Grain Breads on Blood Glucose, Insulin, and Incretins in Overweight and Obese Men." Journal of Nutrition and Metabolism **2012**.
- Moroni A. V., Arendt E. K. & Bello F. D. (2011a). "Biodiversity of lactic acid bacteria and yeasts in spontaneously-fermented buckwheat and teff sourdoughs." Food Microbiology **28**(3): 497-502.
- Moroni A. V., Arendt E. K., Morrissey J. P. & Bello F. D. (2010). "Development of buckwheat and teff sourdoughs with the use of commercial starters." International Journal of Food Microbiology **142**(1-2): 142-148.
- Moroni A. V., Bello F. D., Zannini E. & Arendt E. K. (2011b). "Impact of sourdough on buckwheat flour, batter and bread: Biochemical, rheological and textural insights." Journal of Cereal Science **54**(2): 195-202.

- Moroni A. V., Dal Bello F. & Arendt E. K. (2009). "Sourdough in gluten-free bread-making: An ancient technology to solve a novel issue?" Food Microbiology **26**(7): 676-684.
- Mujica S. A., Jacobsen S. E., Izquierdo J. & Marathe J. P., Eds. (2001). Quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd) Ancestral cultivo andino, alimento del presente y futuro. Santiago, Chile, FAO.
- Novotni D., Čukelj N., Smerdel B., Bituh M., Dujmić F. & Ćurić D. (2012). "Glycemic index and firming kinetics of partially baked frozen gluten-free bread with sourdough." Journal of Cereal Science **55**(2): 120-125.
- Onyango C., Mutungi C., Unbehend G. & Lindhauer M. G. (2011a). "Modification of gluten-free sorghum batter and bread using maize, potato, cassava or rice starch." LWT - Food Science and Technology **44**(3): 681-686.
- Onyango C., Mutungi C., Unbehend G. & Lindhauer M. G. (2011b). "Rheological and textural properties of sorghum-based formulations modified with variable amounts of native or pregelatinised cassava starch." LWT - Food Science and Technology **44**(3): 687-693.
- Peressini D., Pin M. & Sensidoni A. (2011). "Rheology and breadmaking performance of rice-buckwheat batters supplemented with hydrocolloids." Food Hydrocolloids **25**(3): 340-349.
- Poutanen K., Flander L. & Katina K. (2009). "Sourdough and cereal fermentation in a nutritional perspective." Food Microbiology **26**(7): 693-699.
- Ravyts F. & De Vuyst L. (2011). "Prevalence and impact of single-strain starter cultures of lactic acid bacteria on metabolite formation in sourdough." Food Microbiology **28**(6): 1129-1139.
- Repo-Carrasco R. & Encina Zelada C. R. (2008). "Determinación de la capacidad antioxidante y compuestos fenólicos de cereales andinos: Quinoa (*Chenopodium quinoa*), Kañiwa (*Chenopodium pallidicaule*) y Kiwicha (*Amaranthus caudatus*)." Revista de la sociedad química de Perú **74**(2): 85-99.
- Repo-Carrasco R., Espinoza C. & Jacobsen S. (2003). "Nutritional value and use of the Andean crops quinoa (*Chenopodium quinoa*) and kaniwa (*Chenopodium pallidicaule*)." Food reviews international **19**(1): 179-189.
- Repo-Carrasco R. & Serna L. A. (2011). "Quinoa (*Chenopodium quinoa*, Willd.) as a source of dietary fiber and other functional components." Ciencia é Tecnología de Alimentos **31**(1): 225-230.

- Rieder A., Holtekjølén A. K., Sahlstrøm S. & Moldestad A. (2012). "Effect of barley and oat flour types and sourdoughs on dough rheology and bread quality of composite wheat bread." Journal of Cereal Science **55**(1): 44-52.
- Rizzello C. G., Coda R., Mazzacane F., Minervini D. & Gobbetti M. (2012). "Micronized by-products from debranned durum wheat and sourdough fermentation enhanced the nutritional, textural and sensory features of bread." Food Research International **46**(1): 304-313.
- Ruales J. & Nair B. M. (1993a). "Content of fat, vitamins and minerals in quinoa (*Chenopodium quinoa*, Willd) seeds." Food Chemistry **48**(2): 131-136.
- Ruales J. & Nair B. M. (1993b). "Saponins, phytic acid, tannins and protease inhibitors in quinoa (*Chenopodium quinoa*, Willd) seeds." Food Chemistry **48**(2): 137-143.
- Rühmkorf C., Jungkuntz S., Wagner M. & Vogel R. F. (2012). "Optimization of homoexopolysaccharide formation by lactobacilli in gluten-free sourdoughs." Food Microbiology **32**(2): 286-294.
- Sakač M., Torbica A., Sedej I. & Hadnađev M. (2011). "Influence of breadmaking on antioxidant capacity of gluten free breads based on rice and buckwheat flours." Food Research International **44**(9): 2806-2813.
- Santos Calderelli V. A., de Toledo Benassi M., Visentainer Vergílio J. & Matioli G. (2010). "Quinoa and Flaxseed: Potential Ingredients in the Production of Bread with Functional Quality." Brazilian Archives of Biology and Technology **53**(4): 981-986.
- Scazzina F., Del Rio D., Pellegrini N. & Brighenti F. (2009). "Sourdough bread: Starch digestibility and postprandial glycemic response." Journal of Cereal Science **49**(3): 419-421.
- Schober T. J., Bean S. R. & Boyle D. L. (2007). "Gluten-Free Sorghum Bread Improved by Sourdough Fermentation: Biochemical, Rheological, and Microstructural Background." Journal of Agricultural and Food Chemistry **55**(13): 5137-5146.
- Schoenlechner R., Siebenhandl S. & Berghofer E. (2008). Pseudocereals. Gluten-Free Cereal Products and Beverages. K. A. Elke & B. Fabio Dal. San Diego, Academic Press: 149-190.
- Schoenlechner R., Wendner M., Siebenhandl-Ehn S. & Berghofer E. (2010). "Pseudocereals as alternative sources for high folate content in staple foods." Journal of Cereal Science **52**(3): 475-479.
- Sterr Y., Weiss A. & Schmidt H. (2009). "Evaluation of lactic acid bacteria for sourdough fermentation of amaranth." International Journal of Food Microbiology **136**(1): 75-82.

- Tapia M. E., Morón C., Ayala G. & Fries A. M. (2000). Valor nutritivo y patrones de consumo. Cultivos andinos subexplotados y su aporte a la alimentación. M. E. Tapia. Santiago, Chile, FAO. Oficina Regional para América Latina y el Caribe.
- Veluppillai S., Nithyanantharajah K., Vasantharuba S., Balakumar S. & Arasaratnam V. (2010). "Optimization of Bread Preparation from Wheat Flour and Malted Rice Flour." Rice Science **17**(1): 51-59.
- Vermeulen N., Kretzer J., Machalitza H., Vogel R. F. & Gänzle M. G. (2006). "Influence of redox-reactions catalysed by homo- and hetero-fermentative lactobacilli on gluten in wheat sourdoughs." Journal of Cereal Science **43**(2): 137-143.
- Vogelmann S. A. & Hertel C. (2011). "Impact of ecological factors on the stability of microbial associations in sourdough fermentation." Food Microbiology **28**(3): 583-589.
- Vogelmann S. A., Seitter M., Singer U., Brandt M. J. & Hertel C. (2009). "Adaptability of lactic acid bacteria and yeasts to sourdoughs prepared from cereals, pseudocereals and cassava and use of competitive strains as starters." International Journal of Food Microbiology **130**(3): 205-212.
- Weckx S., Van der Meulen R., Maes D., Scheirlinck I., Huys G., Vandamme P. & De Vuyst L. (2010). "Lactic acid bacteria community dynamics and metabolite production of rye sourdough fermentations share characteristics of wheat and spelt sourdough fermentations." Food Microbiology **27**(8): 1000-1008.
- Witczak M., Korus J., Ziobro R. & Juszczak L. (2010). "The effects of maltodextrins on gluten-free dough and quality of bread." Journal of Food Engineering **96**(2): 258-265.
- Zannini E., Pontonio E., Waters D. M. & Arendt E. K. (2012). "Applications of microbial fermentations for production of gluten-free products and perspectives." Applied Microbiology and Biotechnology **93**(2): 473-485.

2. Caracterización de materias primas y estudio de formulación de panes con inclusión de quinua

2.1 INTRODUCCIÓN

El pan es un producto alimenticio de consumo generalizado que resulta de la fermentación y horneado de una mezcla básica de harina de trigo, agua, sal y levadura. Esta mezcla puede contener otros ingredientes o aditivos permitidos por la legislación vigente (ICONTEC, 2005b). Es una matriz alimenticia compleja formada por una fase gaseosa dispersa en una fase sólida con dos estructuras diferentes: la miga y la corteza. La corteza es la superficie dorada que se forma por la reacción de Maillard y caramelización durante el horneado y tiene varias funciones importantes en sus propiedades; entre ellas, definir el producto según su grosor y dureza (Mohd Jusoh *et al.*, 2009). La miga es la parte interna, blanca y esponjosa que se forma por la retención de gas producido en la fermentación debido al comportamiento viscoelástico de la masa conferido por la presencia de gluten (Dobraszczyk & Morgenstern, 2003; Arendt *et al.*, 2008).

El trigo es uno de los cereales más usados en el mundo, especialmente para producir alimentos básicos como el pan, pues la presencia de gluten le confiere la propiedad de formar una masa que puede atrapar gas producido por las levaduras durante la fermentación, resultando en una estructura esponjosa, atractiva para el consumidor (Alvarez-Jubete *et al.*, 2010). El gluten es un material cohesivo, viscoelástico, formado por proteínas de almacenamiento que contribuyen en un 80-85 % a la proteína total del trigo. Está comprendido por dos fracciones: las gliandinas monoméricas y las gluteninas poliméricas. La fracción de gliandina contribuye a las propiedades de viscosidad y extensibilidad de la masa y la fracción glutelina a su elasticidad. Estas dos fracciones forman el gluten debido a su habilidad de polimerizar extensivamente vía reacciones de intercambio sulfhidrilo disulfido que ocurren durante la formación de la masa (Arendt *et al.*, 2008).

La principal función del gluten durante la formación de la masa es absorber y retener agua, formando celdas con paredes muy elásticas que capturan el dióxido de carbono producido durante la fermentación (Veluppillai *et al.*, 2010). La ausencia de gluten a menudo resulta en una mezcla líquida en lugar de una masa, y puede resultar en pan horneado con una textura deleznable, pobre color y otros defectos después del horneado. La masa de pan sin gluten puede retener gas sólo si otro hidrocoloide reemplaza el gluten (Torbica *et al.*, 2010) y numerosos estudios se han encaminado por esta ruta, con el inconveniente de obtener productos con pobres características nutricionales y menor vida útil (Witczak *et al.*, 2010; Peressini *et al.*, 2011).

Los consumidores están cada vez más interesados en los alimentos funcionales y esto ha llevado a una mayor oferta de tales productos en el mercado. En el área de los productos horneados esta tendencia se encuentra relativamente subdesarrollada. Sin embargo, actualmente existe un renovado interés en los cereales menores y pseudocereales en el mercado de los alimentos saludables, que quiere explotar las características nutracéuticas únicas de estos granos (Angioloni & Collar, 2011). Lo anterior ha llevado a estudiar los efectos obtenidos con un reemplazo total o parcial de la harina de trigo por harina de otros cereales, pseudocereales, tubérculos o leguminosas (Hadnađev *et al.*, 2011). Es así como diferentes cultivos alternativos como son los pseudocereales, quinua (*Chenopodium quinoa* Willd), amaranto (*Amaranthus hypochondriacus*, *A. cruentus* y *A. caudatus*) y alforfón (*Fagopyrum esculentum*) se encuentran como materias primas promisorias en el foco del desarrollo de nuevos productos horneados (Sedej *et al.*, 2011a).

Es claro que la funcionalidad tecnológica del gluten determina la calidad del pan, pues en la mezcla y amasado de harina de trigo la estructura tridimensional formada por este es fundamental para las características reológicas, de textura y distribución de la miga (Hüttner & Arendt, 2010; Lamacchia *et al.*, 2010). Por tanto, la sustitución por otros ingredientes farináceos como harinas de pseudocereales, cuyo contenido de gluten es nulo, ocasionará la disminución del volumen y de la estructura esponjosa característica en la miga al reducir la fuerza de esta red proteica.

La quinua no forma parte de la dieta usual de la mayoría de la población, sin embargo actualmente se usa como sustituto de la harina de trigo en la producción de pan, con sustituciones en proporciones del 12 al 40% (Santos Calderelli *et al.*, 2010; Schoenlechner *et al.*, 2010). El reemplazo parcial de la harina de trigo con otras harinas mejora la calidad nutricional de los productos horneados, pero se ha determinado que pseudocereales como amaranto, quinua y alforfón, presentan perfiles reológicos diferentes al trigo lo cual afecta la calidad sensorial de dichos productos (Hadnađev *et al.*, 2011).

La quinua tiene una gran capacidad para adaptarse a condiciones ecológicas muy diferentes. En comparación con otros cereales, la quinua no ha sido objeto de un mejoramiento genético sistemático y se encuentran variedades con características muy diversas (Delgado P. *et al.*, 2009), lo cual hace necesario que el análisis de sus productos de procesamiento primario que se emplean como ingredientes de otros alimentos, como es el caso de las harinas, sea el primer paso para la estandarización de productos procesados como el pan.

Este capítulo presenta el estudio realizado para la formulación de combinaciones trigo-quinua con potencial nutricional y de buena aptitud tecnológica para el proceso de panificación. En primer lugar se realizó la caracterización de harinas de tres variedades de quinua dulce de cultivares colombianos, a saber: Blanca de Jericó, Facianar Aurora y Tunkahuan.

Facianar Aurora es una variedad mejorada de quinua dulce para la región andina del departamento de Nariño, obtenida en la Facultad de Ciencias Agrícolas de la Universidad de Nariño, se adapta entre 2.300 y 3.000 de altura. Calificada como semiprecoz, madurando entre 85 y 145 días. Es una planta de porte bajo con altura entre 85 y 130 cm; en su etapa de floración, la panoja es de color violeta y al llegar a la maduración es de color rosado, y el grano es de color blanco, con diámetro de 2 mm en promedio (Delgado P. *et al.*, 2009).

Blanca de Jericó es una variedad aparentemente originaria del Norte de Boyacá, de la población de Jericó. Es una variedad dulce, de porte alto, alcanzando alturas promedio de 180 cm. Su ciclo vegetativo es tardío (de 180 a 210 días), con un rendimiento promedio de 2 Tm/Ha, tamaño de grano de 2 mm y color crema (Delgado P. *et al.*, 2009).

Tunkahuan es una variedad dulce proveniente de Ecuador, obtenida por selección de una población de germoplasma por el Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias, se adapta en áreas comprendidas entre 2400 y 3200 metros de altura. En floración la panoja es rosada y al llegar a la maduración es amarilla. El grano es de color blanco con diámetro de 2mm. Es una planta de porte medio (144 cm en promedio) y semitardía con un ciclo vegetativo de 180 días (Delgado P. *et al.*, 2009).

Partiendo de la caracterización de las materias primas se realizó el estudio de formulación para la elaboración de panes con inclusión de quinua, determinando la influencia del porcentaje de sustitución y la variedad empleada en las propiedades mecánicas de las masas y las características de calidad de los panes obtenidos.

2.2 MATERIALES Y MÉTODOS

Caracterización de harinas de quinua y trigo

La harina obtenida en el procesamiento primario de granos es materia prima para la producción de derivados, siendo su composición determinante de las propiedades nutricionales y organolépticas de estos. Con el objetivo de determinar variables de la composición y comportamiento de harinas de quinua de las variedades estudiadas que pueden influenciar su aptitud tecnológica para el proceso de panificación en sustitución de la harina de trigo, contribuyendo al mejoramiento de las alternativas para su transformación agroindustrial, estas se caracterizaron mediante análisis proximal, de minerales y de capacidad de absorción de agua.

Material analizado

Se analizaron muestras de harina de trigo comercial (Harinera del Valle, S. A) y harinas de quinua de las variedades dulces Facianar Aurora, Blanca de Jericó y Tunkahuan, provenientes del municipio de Tuta, Boyacá y suministrada por un proveedor local. La harina de quinua se obtuvo del procesamiento de granos trillados, limpios y secos en un molino de martillos con malla de 0.5 mm, alcanzando una temperatura máxima de 100°C. Posterior a la molienda se enfrió a granel, se empacó por 5kg en lonas plásticas y se almacenó en lugar fresco y seco hasta su uso.

Composición proximal

Se determinó la composición proximal de las muestras de acuerdo a métodos AOAC (1997) estandarizados en el laboratorio de análisis fisicoquímico e instrumental del Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos - ICTA , según la Tabla 2-1

Tabla 2-1. Métodos empleados para análisis proximal

Análisis	Método AOAC 2005	Principio
Humedad	925.10	Método gravimétrico
Proteína	945.18	Método Kjeldahl
Grasa	920.85	Método Soxhlet
Fibra cruda	920.86	Digestión ácida y básica
Cenizas	923.03	Calcinación
Carbohidratos	Por diferencia	

Minerales

El contenido de minerales se determinó en un espectrofotómetro de absorción atómica de llama Varian AA240, siguiendo el método AOAC 968.08 (AOAC, 2005). Las longitudes de onda empleadas se pueden ver en la Tabla 2-2.

Tabla 2-2. Longitudes de onda empleadas para análisis de minerales por absorción atómica

Mineral	Longitud de onda (nm)
Calcio	422.7
Cobre	327.4
Sodio	589.0
Potasio	766.5
Hierro	248.3
Magnesio	285.2
Zinc	213.9

Fuente: Salazar et al.(2010)

Capacidad de hidratación

Este parámetro es crucial para harinas en la industria alimenticia pues afecta la aptitud tecnológica y la calidad de los productos de su cocción. La capacidad de hidratación se relaciona con el desempeño de las harinas en la formación de masas y el horneado. Se determinó de acuerdo a lo reportado por (Berton *et al.*, 2002) con el método AACC 51-61(1990) en el cual se determina la capacidad de retención de agua de las harinas mezclándolas con agua en exceso y retirando el excedente por centrifugación.

Tratamiento estadístico

Las variables instrumentales se sometieron a análisis de varianza (ANOVA) seguido de comparación múltiple por mínima diferencia significativa (LSD) con un nivel de significancia del 95% empleando el software Statistix 9.

Propiedades mecánicas de masas de trigo con sustituciones de quinua

Tratamientos

Partiendo de harina de trigo comercial para panificación (Harinera del Valle S.A) y harina de quinua de las variedades Facianar Aurora (QA), Tunkahuan (QT) y Blanca de Jericó (QJ) se elaboraron 2kg de mezclas trigo-quinua, conteniendo 20, 40 y 60% de quinua (Q_x20, 40 y 60; x=A, T ó J) de cada una de las variedades. Se analizó una muestra 100% trigo (TR100).

Reología empírica con uso de Mixolab[®]

Las muestras se analizaron en laboratorios ENZIPAN (Bogotá, Colombia) mediante el sistema Mixolab[®], que permite realizar dos experimentos distintos. El primero consiste en mezclado de la masa a una tasa constante durante 30 min a 30°C y brinda información sobre la fuerza de la harina, similar a la obtenida con un farinógrafo. El segundo involucra un ciclo de enfriamiento – calentamiento luego de un mezclado corto (8 min) y da información de la estructura y comportamiento de la masa similar a la obtenida con un amilógrafo (Moreira *et al.*, 2010). La preparación y caracterización de las masas se realizó de acuerdo al método estándar ICC No. 173, 2008. El contenido inicial de

humedad se ajustó a 14%, la harina se introdujo en el recipiente del sistema, se mezcló a 80 rpm para homogenización, se calentó a 30°C y se añadió agua destilada hasta una hidratación del 61%. La masa total de agua y harina pesó 75g.

Análisis instrumental de textura

Se realizó análisis de perfil instrumental de textura (TPA) empleando el texturómetro TA-XT Plus (*Stable Micro Systems, UK*) aplicando compresión uniaxial en dos ciclos con 5seg de intervalo hasta un 50% de deformación con la sonda SMS P/75 a una velocidad de 10mm/s.

Las muestras se prepararon como se describe a continuación: A partir de cada mezcla de harinas se elaboraron 200g de masa con 58% de hidratación empleando una batidora Hobart N50 para amasar en velocidad media durante 6 minutos. La masa se formó en esferas de 10g que reposaron cubiertas durante 15 minutos antes del análisis, para reforzar su estructura y evitar deshidratación en la superficie.

Tratamiento estadístico

Las variables medidas se muestran en la Tabla 2-3. Se realizó análisis multivariado de componentes principales (PCA) utilizando el software Statistix 9 y PCA and classification toolbox de Milano Chemometrics and QSAR ResearchGroup (v, 1.0, Università degli Studi di Milano-Bicocca, Milano, Italy) con el software MATLAB® (v7.9, The Math Works, Inc., USA). Las variables más influyentes se seleccionaron del PCA para realizar análisis de varianza y comparación múltiple por mínima diferencia significativa.

Tabla 2-3 Variables medidas en análisis de masas trigo-quinua.

<i>MIXOLAB</i>	<i>TPA masa</i>
AA: Absorción de agua (%)	DZ: Dureza (g _f)
C1: Desarrollo y consistencia (Nm)	FR: Fracturabilidad (g _f)
T1: Tiempo de desarrollo (min)	AD: Adhesividad (g _f .seg)
T2: Tiempo de estabilidad (min)	EL: Elasticidad
C2: Reducción de proteína (Nm)	CH: Cohesividad
A: Tasa de debilitamiento de la red protéica (Nm.min ⁻¹)	GM: Gomosidad
C3: Gelatinización de almidón (Nm)	RS: Resiliencia
B: Tasa de gelatinización (Nm.min ⁻¹)	
C4: Actividad de amilasa	
G: Tasa de degradación enzimática (Nm.min ⁻¹)	
C4/C3: Estabilidad de cocción	
C5: Gelificación de almidón (Nm)	
C5-C4: Estabilidad (Nm)	

Ensayo de panificación

Proceso estandarizado

El proceso estandarizado a nivel piloto para la elaboración de pan de trigo-quinua está basado en el método directo con una fermentación que emplea levadura seca instantánea (no necesita activación) de acuerdo al método de referencia para el ensayo de panificación de harina de trigo (ICONTEC, 2005a). Este proceso se llevó a cabo con algunas modificaciones, de acuerdo al diagrama de flujo de la Figura 2-1.

Formulación

En la formulación de productos de panificación el agua es el segundo componente mayoritario y es el que hace posible el amasado de la harina, pues al hidratarse las proteínas se facilita la formación del gluten y además es necesaria para el desarrollo de las levaduras. El nivel de adición de agua es crítico porque confiere a la masa características reológicas que la hacen apropiada para el procesamiento (Cauvain, 2003). El porcentaje de adición de agua determina el rendimiento de la masa, asimismo, esta cantidad depende de la capacidad de absorción de la harina que está dada por su humedad y contenido de grasa y fibra.

Mediante una prueba cualitativa se determinó un nivel adecuado de agua que permitiera obtener una masa suficientemente fácil de manipular, que no fuera demasiado seca y quebradiza, ni demasiado húmeda y adhesiva, para la cual se tomó una mezcla de 50g de de harina con porcentajes de sustitución creciente y se les agrego 20 mL de agua, y se amasó para favorecer la hidratación, a continuación se adicionó sucesivamente 1mL con una pipeta aforada, amasando por 30s y verificando la textura obtenida, hasta que cumpliera con los requisitos previamente descritos.

De esa manera se encontraron niveles de adición de agua de entre el 55 y el 58 % de la harina de acuerdo a su composición, pues al aumentar el porcentaje de sustitución también se incrementa el contenido de fibra y disminuye el contenido de humedad por el aporte de la quinua, dando como resultado un incremento de aproximadamente el 0,5% en el agua por cada 10% de sustitución de harina de quinua. Esto concuerda con lo reportado por (Schoenlechner *et al.*, 2010) quienes mostraron que en la elaboración de panes compuestos trigo-quinua, es necesario adicionar mayores cantidades de agua para obtener un desarrollo de gluten satisfactorio y mejor volumen del pan.

Otros ingredientes importantes son sal, azúcar y grasa. La adición de sal tiene por objeto principal dar sabor al pan, además hace la masa más tenaz, actúa como regulador de la fermentación, favorece la coloración de la corteza durante la cocción y aumenta la capacidad de retención de agua (Mesas & M.T., 2002). El azúcar confiere sabor al producto, se adiciona para alimentar la levadura, aunque altos niveles inhiben su actividad y contribuye al color y formación de la corteza y a la suavidad de la miga. La adición de grasa mejora la retención de gas en la masa y, por tanto, incrementa el volumen y la suavidad de la miga. La cantidad utilizada depende del tipo de harina y del



Figura 2-1. Diagrama de flujo. Proceso estandarizado para panificación con inclusión de quinua.

tipo de producto, por ejemplo, las harinas integrales que son ricas en fibra requieren una mayor cantidad de grasa (Cauvain, 2003). En la formulación base desarrollada (Tabla 2-4) se fijaron los porcentajes de sal, azúcar, grasa y agua que permitieron obtener pan blando, según los requisitos generales de este tipo de productos (ICONTEC, 2005b).

Tabla 2-4. Formulación de pan con inclusión de quinua

Ingrediente	Porcentaje
Harina	100
Levadura seca	1.6
Sal	2
Azúcar	12
Margarina industrial	12
Agua	55 - 58

De acuerdo a resultados previos y reportes en la literatura con respecto a la cantidad máxima de sustitución de harina de trigo por harina de pseudocereales andinos que permite obtener panes de buena calidad (Santos Calderelli *et al.*, 2010; Schoenlechner *et al.*, 2010; Sanz-Penella *et al.*, 2013), se procedió a determinar el efecto de la variedad y el porcentaje de sustitución, empleando sustituciones de 20, 40 y 60% de las tres variedades estudiadas.

Muestras

Se elaboraron panes de acuerdo a la formulación y proceso estandarizados de la Figura 2-1 y la Tabla 2-4, empleando harina de quinua de las variedades Facianar Aurora (QA), Blanca de Jericó (QJ) y Tunkahúan (QJ), sustituyendo parcialmente la harina de trigo por harina de quinua en proporciones de 20, 40 y 60% del total de la harina. Se elaboró un control 100 trigo (TR100).

Análisis instrumental de textura

Se empleó el texturómetro TA-XT Plus (*Stable Micro Systems, UK*) para realizar análisis de perfil instrumental de textura y dureza de corteza.

El perfil instrumental de textura se obtuvo por compresión uniaxial en dos ciclos a una velocidad de 10 mm/s, con 5 s de intervalo, a cubos de 3 cm de lado de pan sin corteza obtenidos de la parte central de las hogazas de pan hasta un 70 % de deformación con la sonda cilíndrica de 75 mm de diámetro SMS P/75. En este análisis se determinó la dureza de la miga (gf) y la masticabilidad como un parámetro adimensional obtenido del análisis matemático de los gráficos fuerza frente a tiempo obtenidos (Phimolsiripol *et al.*, 2012; Sanz-Penella *et al.*, 2013).

La dureza de la corteza se determinó mediante penetración con la sonda esférica de diámetro de ¼ de pulgada SMS P/0,25S a porciones de pan con corteza de 3 cm de grosor penetrando la muestra 5 mm. Este método de análisis estandarizado en el desarrollo del presente estudio se basó en lo reportado por (Gallagher *et al.*, 2003)

quienes realizaron medidas de este parámetro por penetración con una sonda cilíndrica de 6mm. Es un método reproducible y confiable para muestras de corteza continua. En muestras con corteza agrietada presentó altos coeficientes de variación para una misma muestra, que afectaron su reproducibilidad.

Color

Para determinar instrumentalmente el color de la miga de panes con sustituciones de quinua, se empleó un colorímetro Minolta CR 300 calibrado con patrón iluminante D₆₅/10° en el espacio de color CieLab. Se midieron tres tajadas por cada tratamiento, registrando el promedio de dos zonas diferentes de cada tajada, los resultados se expresaron en coordenadas L, a y b, de acuerdo a lo reportado por (Phimolsiripol *et al.*, 2012).

Volumen específico

El volumen específico de los panes da una idea de su calidad, pues al maximizarse la retención de gas en la formación de la estructura esponjosa lo hace también este parámetro. Se determinó mediante el método de desplazamiento de semillas 10-10B (AACC, 2000) de acuerdo a la Ecuación 2-1.

Ecuación 2-1. Cálculo de volumen específico de pan

$$V_{esp} = \frac{V_p}{W_p}$$

V_{esp} : Volumen específico (mL/g)
 V_p : Volumen de pan (mL)
 W_p : Peso del pan (g)

Tratamiento estadístico

Los datos obtenidos fueron sometidos a análisis de varianza ANOVA, seguido de comparación múltiple por mínima diferencia significativa (LSD) empleando el software Statistix 9.

2.3 RESULTADOS Y ANÁLISIS

Caracterización de harinas de quinua y trigo

Análisis proximal

El contenido de macronutrientes de las harinas de las tres variedades de quinua estudiadas difiere del de la harina de trigo (Tabla 2-5). Las harinas de quinua mostraron contenidos de 5 veces más grasa, y 3 a 4 veces más fibra y cenizas, con contenidos de carbohidratos y proteína cercanos al de la harina de trigo.

Tabla 2-5. Resultados de caracterización de harinas de quinua de las variedades Blanca de Jericó, Facianar Aurora y Tunkahuan y harina de trigo comercial

	Harinas de quinua			Harina de trigo para panificación
	Blanca de Jericó	Facianar Aurora	Tunkahuan	
Proximal (g/100g) *en base seca				
Humedad	8.8 ± 0.2 ^b	8.8 ± 0.6 ^b	8.8 ± 0.5 ^b	11.5 ± 0.50 ^a
Grasa*	5.4 ± 1.0 ^a	5.2 ± 0.8 ^a	6.6 ± 1.5 ^a	1.4 ± 0.2 ^b
Proteína*	10.8 ± 0.3 ^{ab}	9.4 ± 0.1 ^b	12.8 ± 1.7 ^a	13.1 ± 0.1 ^a
Fibra cruda*	1.6 ± 0.2 ^{ab}	1.4 ± 0.1 ^b	1.9 ± 0.2 ^a	0.5 ± 0.1 ^c
Cenizas*	2.0 ± 0.3 ^a	2.0 ± 0.1 ^a	2.3 ± 0.2 ^a	0.7 ± 0.1 ^b
Carbohidratos*	80.1 ± 5.0 ^{ab}	81.9 ± 1.4 ^{ab}	76.4 ± 3.6 ^b	84.3 ± 0.3 ^a
Minerales (mg/100g)				
Ca	40.7 ± 4.1 ^{ab}	57.2 ± 8.3 ^a	49.1 ± 17.3 ^{ab}	31.3 ± 1.5 ^b
Cu	0.6 ± 0.2 ^a	0.6 ± 0.1 ^a	0.6 ± 0.2 ^a	0.3 ± 0.1 ^b
Fe	4.3 ± 0.7 ^{ab}	3.9 ± 0.5 ^b	5.5 ± 1.4 ^{ab}	6.3 ± 0.6 ^a
Mg	156.8 ± 7.7 ^a	143.5 ± 22.7 ^a	138.0 ± 7.4 ^a	48.7 ± 4.2 ^b
K	466.7 ± 24.0 ^a	545.2 ± 18.5 ^a	383.1 ± 17.0 ^{ab}	118.8 ± 9.8 ^b
Na	11.9 ± 0.5 ^a	7.5 ± 0.9 ^b	16.0 ± 0.3 ^a	1.0 ± 0.1 ^b
Zn	2.3 ± 0.1 ^b	2.1 ± 0.3 ^b	3.6 ± 1.3 ^a	1.1 ± 1 ^b
Capacidad de hidratación (%)				
	122.6 ± 12.8 ^a	130.3 ± 3.8 ^a	117.1 ± 10.8 ^a	75.8 ± 2.63 ^b

Las variables con la misma letra en el superíndice no muestran diferencias significativas entre sí (n=3, α=0,05).

La harina de la variedad Blanca de Jericó presentó contenidos intermedios de proteína, grasa, fibra cruda, cenizas y carbohidratos con respecto a las demás variedades. La harina de la variedad Facianar Aurora presentó un contenido de proteína más bajo que el de la harina de trigo y las demás harinas de quinua; contenidos de grasa, fibra cruda y cenizas mayores que para la harina de trigo, y menores que para las demás harinas de quinua, y mayor contenido de carbohidratos, similar al de la harina de trigo. La harina de la variedad Tunkahuan presentó el mayor contenido de proteína entre las harinas de quinua, que no difirió significativamente del de la harina de trigo y los mayores contenidos de grasa, fibra cruda y cenizas entre todas las harinas analizadas, el contenido de carbohidratos para la harina de esta variedad fue, en contraste, el menor.

Se ha reportado que el contenido de proteína de granos de diferentes variedades de quinua es superior al del trigo. Al analizar los resultados obtenidos para las harinas caracterizadas es necesario tener en cuenta la gran variabilidad genética de este cultivo,

lo que genera variedades de diferente composición, y los efectos del procesamiento sobre la estructura del grano. A diferencia de otros granos como maíz, arroz y soya que presentan un contenido de más del 80% de la proteína en el endospermo, la proteína de los pseudocereales andinos se encuentra principalmente en el embrión, en el cual se encuentra entre el 35-40% para el caso de la quinua (Mujica S. *et al.*, 2001). Una de las características morfológicas más importantes de la quinua es que el embrión rodea el perispermo (Schoenlechner *et al.*, 2008). Durante las etapas del procesamiento previas a la molienda, como la trilla y la limpieza, algunas partes del embrión se pueden desprender de la semilla, ocasionando una disminución del contenido de proteína.

Adicionalmente, es importante considerar la calidad de la fracción proteica en la quinua, que presenta un alto contenido de aminoácidos esenciales como lisina y metionina que son deficientes en los cereales (Bhargava *et al.*, 2006). Esto se debe a que la proteína de los pseudocereales andinos está compuesta principalmente de globulinas y albuminas que contienen muy poco o cero prolaminas, las cuales son la principal forma proteica de almacenamiento en cereales. La composición de aminoácidos de las globulinas y albúminas difiere significativamente de las prolaminas, ya que contienen menos ácido glutámico y prolina y más aminoácidos esenciales como lisina, lo cual tiene implicaciones relacionadas con su calidad nutricional (Alvarez-Jubete *et al.*, 2010).

Los aminoácidos limitantes disminuyen la utilización de la proteína de los alimentos. Al comparar el contenido de aminoácidos de quinua considerando sólo los aminoácidos que con mayor frecuencia son limitantes en las dietas mixtas: lisina, azufrados (metionina+cistina), treonina y triptófano, es posible apreciar que, a excepción del triptófano, su contenido de aminoácidos en general es superior al de las proteínas del trigo. La quinua presenta como único aminoácido limitante a fenilalanina+tirosina con un cómputo aminoacídico de 63% (Tapia *et al.*, 2000).

En cuanto a la fracción lipídica, la quinua se conoce como un cultivo pseudo-oleoso debido a su excepcional balance entre aceite, proteína y grasas. El perispermo, el embrión y el endospermo son las tres áreas de reserva de energía del grano. El almidón se almacena en el perispermo y los lípidos y proteínas en el endospermo y el embrión, que representa una mayor fracción en estas semillas que en las de los cereales (Alvarez-Jubete *et al.*, 2010). La fracción lipídica de estos granos es similar a otros cereales y contiene principalmente ácidos grasos insaturados (Ruales & Nair, 1993; Bruni *et al.*, 2001). El contenido de grasa la quinua se reporta entre 1.8 y 9.5% en base seca (Tapia *et al.*, 2000; Bhargava *et al.*, 2006; Schoenlechner *et al.*, 2008; Alvarez-Jubete *et al.*, 2010). Los valores determinados en este estudio para las harinas de las tres variedades evaluadas se encuentran entre este intervalo. Este contenido de lípidos es entre 2 y 3 veces más alto que en los cereales comunes, y se caracteriza por poseer ácidos grasos con un alto grado de insaturaciones, lo cual es recomendable desde el punto de vista nutricional, destacándose el ácido linoleico como el ácido graso más abundante (50% del total de ácidos grasos) (Ruales & Nair, 1993; Bruni *et al.*, 2001).

Adicionalmente a los ácidos grasos insaturados, en la fracción grasa se encuentran vitaminas liposolubles. En la quinua, el aporte más importante es el de vitamina E, de la cual se reporta un contenido de entre 0.59 y 5.90 mg/100g en base seca, por lo que se considera una buena fuente de esta vitamina. Este contenido de vitamina E contribuye a prolongar la estabilidad de los ácidos grasos presentes en la semilla, (Mujica S. *et al.*, 2001; Ng *et al.*, 2007; Ryan *et al.*, 2007)

Minerales

Una de las principales razones para reemplazar al menos en parte al trigo en la panificación es aumentar el contenido de micronutrientes del pan, con lo cual se mejora el aporte nutricional de estos productos de consumo masivo (Flander *et al.*, 2011; Kopeć *et al.*, 2011; Alaunyte *et al.*, 2012; Sanz-Penella *et al.*, 2013).

Los minerales representan una enorme clase de micronutrientes, la mayor parte de los cuales se consideran esenciales, pues regulan funciones del organismo como el transporte de oxígeno, la construcción de tejidos, el equilibrio, etc. Es común dividirlos en macrominerales y microminerales (oligoelementos). Los macrominerales, como el calcio y el fósforo, son necesarios en cantidades de 100 mg/día o más, en tanto que los microminerales, como el hierro y el selenio, se requieren en cantidades mucho menores, comúnmente menos de 20 mg/día (Anderson, 2001).

A excepción del hierro, que presentó un mayor valor para la harina de trigo (6.3 ± 0.6 mg/100g) porque esta harina es enriquecida por disposiciones legales, los contenidos de minerales fueron mayores para las harinas de quinua. Estos fueron comparables con lo reportado en la literatura para harinas de quinua (Oshodi *et al.*, 1999; Ogungbenle, 2003.), demostrando su potencial aporte de micronutrientes.

El contenido de cobre fue similar para todas las harinas de quinua (0.6 mg/100g) y el doble que para la harina de trigo (0.3 ± 0.1 mg/100g). La harina de la variedad Blanca de Jericó presentó el mayor contenido de magnesio (156.9 ± 7.7 mg/100g), Facianar Aurora el mayor contenido de calcio (57.2 ± 8.3 mg/100g) y potasio (545.2 ± 18.5 mg/100g) y Tunkahuan el más alto contenido de hierro (5.5 ± 1.4 mg/100g), sodio (16.1 ± 0.3 mg/100g) y zinc (3.6 ± 1.3 mg/100g).

Estos resultados muestran similitud con lo reportado con respecto a que el contenido de minerales en la harina de quinua es más alto que el de cereales como trigo, avena y cebada, especialmente en potasio, magnesio y calcio (Konishi *et al.*, 2004; Abugoch James, 2009).

Capacidad de hidratación

La capacidad de hidratación es una propiedad tecnológica determinada por la composición y procesamiento de las harinas. En la Tabla 2-5 se puede observar que las harinas de quinua presentaron mayor capacidad de hidratación que la harina de trigo.

Para la harina de trigo el porcentaje de hidratación ($75,97 \pm 2,63$) fue menor a los valores reportados cercanos a 120% para fracciones de reducción de la molienda seca con un contenido similar de grasa (Berton *et al.*, 2002), lo cual puede deberse a diferencias entre las variedades de trigo empleadas en ambos estudios, y a efectos del procesamiento.

Los mayores valores de absorción de agua para las harinas de quinua se explican por las diferencias en su composición, especialmente altos contenidos de fibra, y las características del almidón de la quinua, que tiene mayor capacidad de retención de agua (Schoenlechner *et al.*, 2008; Alvarez-Jubete *et al.*, 2010). Esto puede favorecer la formación de una red de almidón con capacidad para soportar en parte la deficiencia de gluten causada por la sustitución de harina de trigo por harina de quinua en panificación.

Aunque no se evidenciaron diferencias significativas entre las tres harinas de quinua, Facianar Aurora presentó una mayor capacidad de hidratación ($130,26 \pm 3,80$ %), lo cual dado su menor contenido de grasa y fibra puede deberse a una mayor capacidad del almidón de esta variedad para retener agua.

Propiedades mecánicas de masas de trigo con sustituciones de quinua

La Figura 2-2 presenta el resultado del análisis de componentes principales (PCA) realizado para las variables medidas en el análisis Mixolab® y de Textura instrumental. Las 6 primeras raíces características tuvieron valores mayores a 1, explicando el 92,5% de la varianza (Anexo A). Las dos primeras componentes principales explicaron el 66,12% de la varianza y se presentan en la Figura 2-2. Todas las muestras con inclusión de quinua fueron más cercanas entre sí que con las muestras 100% trigo (TR100) y se agruparon de acuerdo al porcentaje de quinua en la mezcla.

De acuerdo al análisis realizado, el porcentaje de quinua en la mezcla fue el factor más influyente en las variables evaluadas, siendo las variables tasa de gelatinización (B), retrogradación de almidón (C5) y dureza (DZ) (Tabla 2-6) las más influenciadas (ver eigenvalores del PCA, Anexo A).

La dureza aumentó significativamente con mayores porcentajes de quinua y está relacionada con una mayor absorción de agua y disminución de la estabilidad, la actividad amilasa y la gelificación de almidón. Esto puede deberse a que al aumentar el contenido de quinua disminuyó el contenido de gluten, por lo que el almidón pasó a convertirse en el componente más importante para formar la estructura de la masa. El almidón de quinua presenta mayor solubilidad, capacidad para ligar agua, y viscosidad que el almidón de trigo (Alvarez-Jubete *et al.*, 2010).

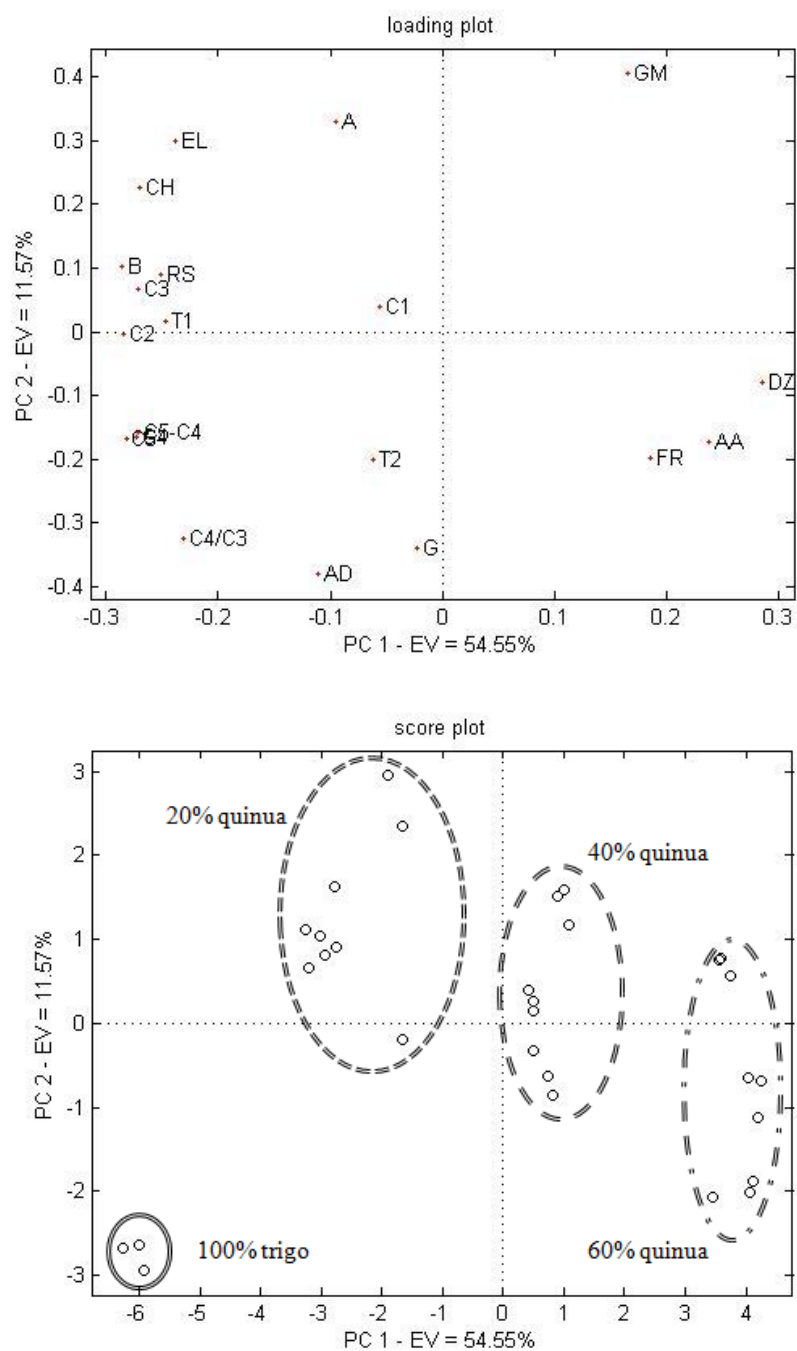


Figura 2-2. PCA de propiedades reológicas y texturales de masas con diferentes inclusiones de quinua.

Tabla 2-6. Resultados para las variables más significativas de las propiedades mecánicas de masas con sustituciones de harina de trigo por harina de quinua

	DUREZA (gf)	TASA DE GELATINIZACIÓN (Nm.min ⁻¹)	RETROGRADACIÓN DE ALMIDÓN (Nm)	TIEMPO DE ESTABILIDAD (min)
TR100	1031,955 ± 18,919 ^g	0,469 ± 0,017 ^a	2,633 ± 0,015 ^a	16,83 ± 0,01 ^c
QA20	1569,837 ± 40,632 ^f	0,463 ± 0,015 ^a	1,833 ± 0,015 ^c	16,87 ± 0,03 ^b
QJ20	1577,539 ± 16,064 ^f	0,428 ± 0,016 ^b	1,860 ± 0,020 ^b	16,65 ± 0,02 ^f
QT20	1582,747 ± 84,590 ^f	0,433 ± 0,006 ^b	1,747 ± 0,017 ^d	16,56 ± 0,02 ^g
QA40	2256,573 ± 55,412 ^d	0,401 ± 0,012 ^c	1,463 ± 0,015 ^e	16,95 ± 0,03 ^a
QJ40	2295,157 ± 85,962 ^d	0,362 ± 0,007 ^d	1,450 ± 0,010 ^e	16,68 ± 0,01 ^{ef}
QT40	2088,240 ± 40,854 ^e	0,385 ± 0,013 ^c	1,457 ± 0,006 ^e	16,81 ± 0,01 ^c
QA60	3855,921 ± 34,545 ^a	0,330 ± 0,020 ^e	1,363 ± 0,015 ^f	16,46 ± 0,02 ^h
QJ60	3547,731 ± 144,780 ^b	0,321 ± 0,012 ^e	1,297 ± 0,012 ^g	16,73 ± 0,03 ^d
QT60	3312,264 ± 220,815 ^c	0,327 ± 0,006 ^e	1,217 ± 0,012 ^h	16,71 ± 0,01 ^{de}

*Las variables con la misma letra en el superíndice no muestran diferencias significativas entre sí (n=3, α=0,05).

La disminución de la retrogradación del almidón al aumentar el contenido de quinua se explica por un mayor contenido de grasa debido al aporte de la quinua, que favorece la formación de complejos lipido-amilosa resultado en menor viscosidad y en que la molécula de almidón no se pueda reorganizar y cristalizar libremente (Hadnađev *et al.*, 2011; Sedej *et al.*, 2011b).

Por su parte, la disminución de la tasa de gelatinización se debe a un mayor contenido de fibra, que al absorber agua interfiere con el hinchamiento de los gránulos de almidón (Sedej *et al.*, 2011b).

Entre las variables analizadas, se determinó que la variedad de quinua tiene un efecto significativo en el tiempo de estabilidad. Esta variable se relaciona con la estructura de la masa, un tiempo corto indica menor tolerancia al esfuerzo en el mezclado, es decir menos fuerza de la harina, que para el trigo se relaciona con el contenido de gluten (Moreira *et al.*, 2011).

En general las masas con quinua Blanca de Jericó presentaron la menor estabilidad (Tabla 2-6). Las masas con quinua Tunkahuan en la sustitución del 40% no difirieron de las 100% trigo. Las masas con quinua Facianar Aurora presentaron la mayor estabilidad, para esta variedad el tiempo de estabilidad fue incluso mayor que para trigo 100% en la sustitución del 40%. La estabilidad puede aumentar por una mayor absorción de agua (Sedej *et al.*, 2011b), esto indica que la mayor capacidad de hidratación de Facianar Aurora está influenciada por las propiedades del almidón que se gelatiniza más

lentamente pero al disminuir el contenido de gluten puede ser capaz de formar una red suficientemente fuerte para mantener la estructura. Lo anterior permite inferir que la variedad Facianar Aurora puede presentar una mejor aptitud para el proceso de panificación.

Ensayo de panificación

Análisis instrumental de textura

Todas las variables de textura instrumental estudiadas aumentaron con respecto al porcentaje de sustitución. Para la dureza de la corteza se observó que los tratamientos con quinua Facianar Aurora fueron más cercanos al control. La dureza de la miga fue mayor para los panes con Blanca de Jericó y Tunkahúan que para los panes con Facianar Aurora, diferenciándose del control a partir de la sustitución del 40% para todas las variedades. La masticabilidad, que puede interpretarse como la energía necesaria para masticar un alimento sólido, presentó el mismo comportamiento, siendo significativamente diferente del control para todas las sustituciones, excepto para la menor sustitución (20%) de la variedad Facianar Aurora.

Tabla 2-7. Resultados de análisis instrumental de textura a panes con sustituciones de 20, 40 y 60% de quinua de las variedades Facianar Aurora (QA), Blanca de Jericó (QJ) y Tunkahuan (QT), control 100% trigo (TR100)

Tratamiento	Dureza corteza (gf)	Dureza miga (gf)	Masticabilidad
QA20	298.3 ± 7.6 ^e	1805.3 ± 208.0 ^f	284.0 ± 28.8 ^{ef}
QA40	553.9 ± 59.8 ^d	3441.7 ± 502.6 ^e	460.7 ± 68.1 ^e
QA60	598.7 ± 29.3 ^d	13881.7 ± 760.6 ^c	1462.7 ± 172.9 ^c
QJ20	669.9 ± 7.9 ^{cd}	2303.0 ± 239.2 ^f	345.1 ± 27.75 ^e
QJ40	635.0 ± 13.1 ^{cd}	5381.3 ± 166.3 ^d	814.1 ± 47.8 ^d
QJ60	868.4 ± 30.4 ^b	18476.4 ± 838.6 ^b	2848.9 ± 220.0 ^b
QT20	639.2 ± 13.7 ^{cd}	2052.7 ± 56.0 ^f	372.8 ± 29.9 ^e
QT40	736.3 ± 17.74 ^c	3887.9 ± 44.1 ^e	879.2 ± 51.6 ^d
QT60	1672.6 ± 8.7 ^a	20185.5 ± 946.3 ^a	3076.8 ± 237.6 ^a
TR100	386.7 ± 15.6 ^e	1635.7 ± 200.5 ^f	127.3 ± 20.3 ^f

Las variables con la misma letra en el superíndice no muestran diferencias significativas entre sí (n=5, α=0,05).

Los resultados obtenidos en la caracterización de las harinas de quinua (Tabla 2-5) y de las propiedades mecánicas de las masas trigo-quinua (Tabla 2-6) se relacionan con el aumento de la dureza y la masticabilidad de los panes conforme aumenta el porcentaje de sustitución y con los menores valores de estos parámetros para la variedad Facianar Aurora. Las harinas de quinua de las tres variedades estudiadas mostraron mayores contenidos de fibra que la harina de trigo. Tanto la fibra soluble como la insoluble ligan una gran cantidad de agua, lo que puede ocasionar que haya menos agua disponible para el desarrollo del gluten, adicionalmente la fibra, especialmente la insoluble, puede

interferir físicamente con la formación de la red de gluten y causar la ruptura de las celdas de gas (Rieder *et al.*, 2012).

El aumento en la sustitución implica la disminución de la cantidad de gluten y el aumento de la cantidad de fibra, lo cual cambia la estructura de la masa. Esto permite inferir que las modificaciones en las propiedades mecánicas del pan están influenciadas por la disminución de la cantidad de gluten que aporta la harina de trigo y las interacciones con los demás componentes en la masa, como la fibra y el almidón, y afectan la calidad de los panes desde la menor sustitución (20%), con efectos perjudiciales desde la sustitución del 40%. La variedad Facianar Aurora presentó mayor estabilidad y capacidad de absorción de agua y a su vez el menor contenido de fibra, indicando que el almidón en la harina de esta variedad absorbió más agua, formando una estructura más suave y estable.

Color

En cuanto a la apariencia, un color muy amarillo u oscuro puede ser interpretado como una falla de calidad en el pan, pues generalmente estos colores se observan en panes de trigo con un exceso de cocción o a los cuales se ha adicionado colorantes intencionalmente. Debido a que la harina de quinua es más amarilla que la de trigo, la sustitución podría causar un cambio en el color del pan que afecte la aceptación por parte de los consumidores. La Tabla 2-8 presenta los resultados obtenidos para la determinación instrumental del color en panes trigo-quinua.

Tabla 2-8. Análisis instrumental de color de miga de panes con sustituciones de 20, 40 y 60% de quinua de las variedades Facianar Aurora (QA), Blanca de Jericó (QJ) y Tunkahuan (QT), control 100% trigo (TR100)

Tratamiento	Luminosidad	a (verde-rojo)	b (amarillo-azul)
QA20	66.9 ± 0.2 ^{bc}	-0.74 ± 0.05 ^c	19.9 ± 0.5 ^g
QA40	65.7 ± 0.6 ^{cd}	-0.20 ± 0.06 ^b	21.5 ± 0.2 ^f
QA60	61.5 ± 0.2 ^e	0.77 ± 0.03 ^a	23.2 ± 0.1 ^e
QJ20	69.9 ± 0.1 ^a	-1.85 ± 0.01 ^e	25.5 ± 0.7 ^d
QJ40	64.5 ± 0.8 ^d	-0.66 ± 0.03 ^c	30.4 ± 0.5 ^b
QJ60	58.6 ± 0.2 ^f	-0.23 ± 0.09 ^b	32.9 ± 0.5 ^a
QT20	67.3 ± 0.4 ^{bc}	-1.88 ± 0.06 ^e	23.5 ± 0.3 ^e
QT40	64.5 ± 0.8 ^d	-0.68 ± 0.02 ^c	28.6 ± 0.2 ^c
QT60	58.6 ± 0.2 ^f	-0.24 ± 0.09 ^b	32.1 ± 0.2 ^a
TR100	68.9 ± 0.8 ^{ab}	-1.53 ± 0.16 ^d	16.0 ± 0.5 ^h

Las variables con la misma letra en el superíndice no muestran diferencias significativas entre sí ($n=3$, $\alpha=0,05$).

El color de la miga se oscureció (coordenada L más cercana a cero) y tornó más amarillo (coordenada b mayor) y rojizo (coordenada a mayor) al aumentar el porcentaje de sustitución, especialmente a partir del 40%, para todas las variedades de quinua. Los

valores de las coordenadas a y b fueron significativamente diferentes al control para todos los tratamientos con quinua. Lo que indica que al sustituir trigo por quinua en la panificación el color de los productos cambió, debido a los pigmentos presentes en la harina de quinua y las reacciones que se dan durante el horneado.

Volumen específico

Este parámetro disminuyó significativamente a medida que aumentó el porcentaje de quinua en la formulación, debido a la disminución del contenido de gluten y el aumento del contenido de fibra en la masa que ocasionó una menor retención del gas producido por la levadura durante el leudado (Tabla 2-9 y Figura 2-3). En las sustituciones del 20% y el 60% el volumen específico no fue diferente con respecto a la variedad, con un claro colapso de la estructura en la mayor sustitución. En la sustitución del 40% la disminución del volumen específico fue mayor en los tratamientos con quinua Blanca de Jericó que en aquellos con las variedades Tunkahúan y Facianar Aurora.

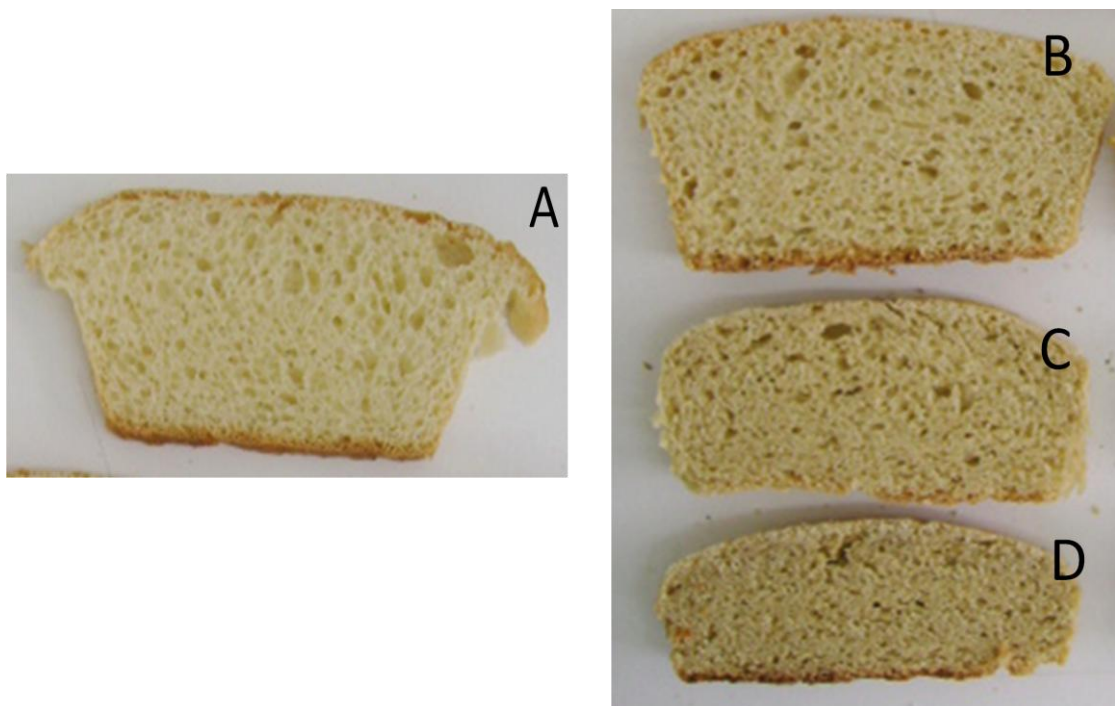


Figura 2-3. Aspecto de panes, A: 100% trigo, y con sustituciones por harina de quinua Facianar Aurora B: 20%, C:40%, D: 60%

Tabla 2-9. Volumen específico (mL/g) de panes con sustituciones de 20, 40 y 60% de quinua de las variedades Facianar Aurora (QA), Blanca de Jericó (QJ) y Tunkahuan (QT), control 100% trigo (TR100)

Tratamiento	Volumen específico (mL/g)
QA20	2.4 ± 0.04 ^b
QA40	1.9 ± 0.09 ^c
QA60	1.0 ± 0.10 ^e
QJ20	2.3 ± 0.02 ^b
QJ40	1.6 ± 0.12 ^d
QJ60	0.9 ± 0.07 ^e
QT20	2.4 ± 0.03 ^b
QT40	1.8 ± 0.02 ^{cd}
QT60	1.0 ± 0.01 ^e
TR100	3.8 ± 0.4 ^a

Las variables con la misma letra en el superíndice no muestran diferencias significativas entre sí (n=3, α=0,05).

Los resultados anteriormente descritos indican que debido a la sustitución de harina de trigo por harina de quinua los panes resultantes presentaron un color más amarillo en la miga por cuenta de los pigmentos que aporta la quinua. En todos los tratamientos se observó un incremento de la dureza de miga y corteza y de la masticabilidad así como una disminución del volumen específico. Efectos similares se han observado en panes compuestos de trigo con sustitución de hasta 40% por harina de pseudocereales andinos (Santos Calderelli *et al.*, 2010; Sanz-Penella *et al.*, 2013), y tienen explicación en el cambio de la estructura de la masa que afecta sus propiedades mecánicas disminuyendo la capacidad de retención del gas que se produce en el leudado.

Los reportes con respecto al máximo porcentaje admisible de sustitución de harina de trigo por harina de quinua que permiten obtener un pan con calidad aceptable son muy variables, en función de los procesos, variedades de quinua de las que provienen las harinas utilizadas, formulaciones en cada estudio y ánimo de la sustitución, con valores del 12% (Santos Calderelli *et al.*, 2010), 20% (Repo-Carrasco *et al.*, 2003) y 40% (Schoenlechner *et al.*, 2010; FAO, 2011).

Teniendo en cuenta que el objetivo principal de la sustitución es mejorar las características nutricionales de panes como productos de consumo masivo, se estableció que la máxima sustitución admisible por las características de calidad determinadas en este estudio es del 40%, recomendando buscar una mejora en la pérdida de volumen específico y palatabilidad en general mediante el empleo de mejoradores, como la masa ácida.

La variedad Facianar Aurora fue aquella con la que se obtuvieron panes con la menor pérdida de volumen específico y el menor aumento de la dureza y masticabilidad, razón por la cual, se seleccionó como aquella con mejores características para su inclusión en el proceso de panificación en sustitución de la harina de trigo, con respecto a las tres

variedades evaluadas. Dicha selección se soporta en las determinaciones realizadas para su composición, porcentaje de absorción de agua y comportamiento mecánico.

De acuerdo a lo anterior, la evaluación de la composición de panes con sustitución de harina de trigo por 40% de harina de quinua Facianar Aurora, empleando los métodos descritos para el análisis de composición proximal y minerales de las harinas, resulta en mayores contenidos de grasa, fibra y cenizas para el pan de quinua y una disminución cercana a 1% del contenido de proteína.

Analizando una porción comestible de 30 g de pan, para una dieta de 2000 kcal diarias, de acuerdo a los valores de ingesta diaria (%VD) recomendada para adultos por la resolución 333 de 2011 del Ministerio de la Protección Social, el pan con 40% quinua presentó con respecto al pan 100% trigo mejores aportes de grasa (2.5 %VD vs. 2.1 %VD) y fibra (0.55 %VD vs. 0.27 %VD), con aportes similares de carbohidratos (4.7 %VD vs. 4.8%VD) y proteína (4.2 %VD vs. 4.7 %VD) y un contenido calórico similar (80 kcal vs. 79 kcal).

El pan de quinua cuenta con un mayor contenido de cenizas, por lo que se determinó el contenido de minerales, encontrando para una porción de 30g y una dieta de 2000 kcal diarias menor aporte de sodio (12 %VD vs. 15 %VD), así como un porcentaje mayor de calcio (con un aporte menor al 1 % de la ingesta diaria recomendada), potasio (3 % VD vs. 1 % VD), magnesio (5 %VD vs. 3 %VD) y zinc (3 % VD vs. 5 %VD).

Lo anterior permite confirmar que este producto representa una mejora en su composición nutricional con respecto al pan 100% trigo, sin embargo se recomienda estudiar posibles alternativas para el mejoramiento de las características de calidad de panes con el nivel de sustitución determinado como máximo, en cuanto a un mayor volumen específico y menor dureza y masticabilidad, una de las cuales puede ser el uso de masa ácida.

2.4 CONCLUSIONES

De acuerdo a la composición y comportamiento de las harinas, las propiedades mecánicas de las masas obtenidas a partir de la sustitución de harina de trigo por harina de quinua, y la caracterización instrumental de panes obtenidos de estas combinaciones, se determinó que la variedad Facianar Aurora presenta una mayor aptitud tecnológica para el proceso de panificación, y que una sustitución del 40% de harina de trigo por harina de quinua permite obtener panes con buenas características y un mejor perfil nutricional que el de panes elaborados con 100% harina de trigo.

2.5 REFERENCIAS

- AACC (2000). Approved methods of American Association of Cereal Chemist St Paul: American Association of Cereal Chemist, Inc.
- Abugoch James L. E. (2009). Chapter 1 Quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.): Composition, Chemistry, Nutritional, and Functional Properties. Advances in Food and Nutrition Research. L. T. Steve, Academic Press. **Volume 58**: 1-31.
- Alaunyte I., Stojceska V., Plunkett A., Ainsworth P. & Derbyshire E. (2012). "Improving the quality of nutrient-rich Teff (*Eragrostis tef*) breads by combination of enzymes in straight dough and sourdough breadmaking." Journal of Cereal Science **55**(1): 22-30.
- Alvarez-Jubete L., Arendt E. K. & Gallagher E. (2010). "Nutritive value of pseudocereals and their increasing use as functional gluten-free ingredients." Trends in Food Science & Technology **21**(2): 106-113.
- Anderson J. (2001). Minerales. Nutrición y dietoterapia de Krause. L. K. Maban & S. Escott-Stump, McGrawHill.
- Angioloni A. & Collar C. (2011). "Polyphenol composition and "in vitro" antiradical activity of single and multigrain breads." Journal of Cereal Science **53**(1): 90-96.
- AOAC (2005). Official Methods of Analysis of AOAC international. Editor: Horwitz W.
- Arendt E. K., Morrissey A., Moore M. M. & Dal Bello F. (2008). Gluten-Free breads. Gluten-Free Cereal Products and Beverages. E. Arendt & F. Dal Bello, Elsevier.
- Berton B., Scher J., Villieras F. & Hardy J. (2002). "Measurement of hydration capacity of wheat flour: influence of composition and physical characteristics." Powder Technology **128**(2-3): 326-331.
- Bhargava A., Shukla S. & Ohri D. (2006). "Chenopodium quinoa--An Indian perspective." Industrial Crops and Products **23**(1): 73-87.
- Bruni R., Medici A., Guerrini A., Scalia S., Poli F., Muzzoli M. & Sacchetti G. (2001). "Wild *Amaranthus caudatus* Seed Oil, a Nutraceutical Resource from Ecuadorian Flora." Journal of Agricultural and Food Chemistry **49**(11): 5455-5460.
- Cauvain S. P., Ed. (2003). Bread Making. Improving Quality. Cambridge, England., CRC Press LLC. Woodhead Publishing Limited.
- Delgado P. A. I., Palacios C. J. H. & Betancourt G. C. (2009). "Evaluación de 16 genotipos de quinua dulce (*Chenopodium quinoa willd*) en el municipio de Iles, Nariño (Colombia)." Agronomía Colombiana **27**(2): 159-167.
- Dobraszczyk B. J. & Morgenstern M. P. (2003). "Rheology and the breadmaking process." Journal of Cereal Science **38**(3): 229-245.

- FAO (2011). La quinua: cultivo milenario para contribuir a la seguridad alimentaria mundial, FAO. Oficina Regional para América Latina y el Caribe.
- Flander L., Suortti T., Katina K. & Poutanen K. (2011). "Effects of wheat sourdough process on the quality of mixed oat-wheat bread." LWT - Food Science and Technology **44**(3): 656-664.
- Gallagher E., Gormley T. R. & Arendt E. K. (2003). "Crust and crumb characteristics of gluten free breads." Journal of Food Engineering **56**(2-3): 153-161.
- Hadnađev T. D., Torbica A. & Hadnađev M. (2011). "Rheological properties of wheat flour substitutes/alternative crops assessed by Mixolab." Procedia Food Science **1**(0): 328-334.
- Hüttner E. K. & Arendt E. K. (2010). "Recent advances in gluten-free baking and the current status of oats." Trends in Food Science & Technology **21**(6): 303-312.
- ICONTEC (2005a). Norma Técnica Colombiana. NTC 291. Ensayo de panificación de la harina de trigo. Método de referencia. Bogotá, D.C., Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación. I.C.S.: 67.060.000.
- ICONTEC (2005b). Norma Técnica Colombiana. NTC. 1363. Pan. Requisitos Generales. Bogotá, D.C., Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación. I.C.S.: 67.060.00.
- Konishi Y., Hirano S., Tsuboi H. & Wada M. (2004). "Distribution of minerals in quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) seeds." Bioscience, Biotechnology, Biochemistry **68**(1): 231-234.
- Kopeć A., Pysz M., Borczak B., Sikora E., Rosell C. M., Collar C. & Sikora M. (2011). "Effects of sourdough and dietary fibers on the nutritional quality of breads produced by bake-off technology." Journal of Cereal Science **54**(3): 499-505.
- Lamacchia C., Chillo S., Lamparelli S., Suriano N., La Notte E. & Del Nobile M. A. (2010). "Amaranth, quinoa and oat doughs: Mechanical and rheological behaviour, polymeric protein size distribution and extractability." Journal of Food Engineering **96**(1): 97-106.
- Mesas J. M. & M.T. A. (2002). "El pan y su proceso de elaboración." Ciencia y Tecnología Alimentaria. Sociedad Mexicana de Nutrición y Tecnología de Alimentos. **3**(005): 307-313.
- Mohd Jusoh Y. M., Chin N. L., Yusof Y. A. & Abdul Rahman R. (2009). "Bread crust thickness measurement using digital imaging and L a b colour system." Journal of Food Engineering **94**(3-4): 366-371.
- Moreira R., Chenlo F. & Torres M. D. (2011). "Rheology of commercial chestnut flour doughs incorporated with gelling agents." Food Hydrocolloids **25**(5): 1361-1371.

- Mujica S. A., Jacobsen S. E., Izquierdo J. & Marathe J. P., Eds. (2001). Quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd) Ancestral cultivo andino, alimento del presente y futuro. Santiago, Chile, FAO.
- Ng S.-C., Anderson A., Coker J. & Ondrus M. (2007). "Characterization of lipid oxidation products in quinoa (*Chenopodium quinoa*)."
Food Chemistry **101**(1): 185-192.
- Ogungbenle H. N. (2003.). "Nutritional evaluation and functional properties of quinoa (*Chenopodium quinoa*) flour." International Journal of Food Sciences and Nutrition **54**: 153-158.
- Oshodi A., Ogungbenle H. & Oladimeji M. (1999). "Chemical composition, nutritionally valuable minerals and functional properties of benniseed, pearl millet and quinoa flours." International Journal of Food Sciences and Nutrition **50**: 325-331.
- Peressini D., Pin M. & Sensidoni A. (2011). "Rheology and breadmaking performance of rice-buckwheat batters supplemented with hydrocolloids." Food Hydrocolloids **25**(3): 340-349.
- Phimolsiripol Y., Mukprasirt A. & Schoenlechner R. (2012). "Quality improvement of rice-based gluten-free bread using different dietary fibre fractions of rice bran." Journal of Cereal Science **56**(2): 389-395.
- Repo-Carrasco R., Espinoza C. & Jacobsen S. (2003). "Nutritional value and use of the Andean crops quinoa (*Chenopodium quinoa*) and kaniwa (*Chenopodium pallidicaule*)."
Food reviews international **19**(1): 179-189.
- Rieder A., Holtekjølén A. K., Sahlstrøm S. & Moldestad A. (2012). "Effect of barley and oat flour types and sourdoughs on dough rheology and bread quality of composite wheat bread." Journal of Cereal Science **55**(1): 44-52.
- Ruales J. & Nair B. M. (1993). "Content of fat, vitamins and minerals in quinoa (*Chenopodium quinoa*, Willd) seeds." Food Chemistry **48**(2): 131-136.
- Ryan E., Galvin K., O'Connor T. P., Maguire A. R. & O'Brien N. M. (2007). "Phytosterol, squalene, tocopherol content and fatty acid profile of selected seeds, grains, and legumes." Plant Foods for Human Nutrition **62**(3): 85-91.
- Salazar C., Varón J. & Díaz Moreno A. C. (2010). Procedimiento para la cuantificación de minerales en pseudocereales por espectrofotometría de absorción atómica de llama ICTA. Laboratorio de control de calidad- Universidad Nacional de Colombia.
- Santos Calderelli V. A., de Toledo Benassi M., Visentainer Vergílio J. & Matioli G. (2010). "Quinoa and Flaxseed: Potential Ingredients in the Production of Bread with Functional Quality." Brazilian Archives of Biology and Technology **53**(4): 981-986.

- Sanz-Penella J. M., Wronkowska M., Soral-Smietana M. & Haros M. (2013). "Effect of whole amaranth flour on bread properties and nutritive value." LWT - Food Science and Technology **50**(2): 679-685.
- Schoenlechner R., Siebenhandl S. & Berghofer E. (2008). Pseudocereals. Gluten-Free Cereal Products and Beverages. K. A. Elke & B. Fabio Dal. San Diego, Academic Press: 149-190.
- Schoenlechner R., Wendner M., Siebenhandl-Ehn S. & Berghofer E. (2010). "Pseudocereals as alternative sources for high folate content in staple foods." Journal of Cereal Science **52**(3): 475-479.
- Sedaj I., Sakac M., Mandic A., Misan A., Pestoric M., Simurina O. & Canadanovic-Brunet J. (2011a). "Quality assessment of gluten-free crackers based on buckwheat flour." LWT - Food Science and Technology **44**(3): 694-699.
- Sedaj I., Sakač M., Mandić A., Mišan A., Tumbas V. & Hadnađev M. (2011b). "Assessment of antioxidant activity and rheological properties of wheat and buckwheat milling fractions." Journal of Cereal Science **54**(3): 347-353.
- Tapia M. E., Morón C., Ayala G. & Fries A. M. (2000). Valor nutritivo y patrones de consumo. Cultivos andinos subexplotados y su aporte a la alimentación. M. E. Tapia. Santiago, Chile, FAO. Oficina Regional para América Latina y el Caribe.
- Torbica A., Hadnađev M. & Dapcevic T. (2010). "Rheological, textural and sensory properties of gluten-free bread formulations based on rice and buckwheat flour." Food Hydrocolloids **24**(6-7): 626-632.
- Veluppillai S., Nithyanantharajah K., Vasantharuba S., Balakumar S. & Arasaratnam V. (2010). "Optimization of Bread Preparation from Wheat Flour and Malted Rice Flour." Rice Science **17**(1): 51-59.
- Witczak M., Korus J., Ziobro R. & Juszczak L. (2010). "The effects of maltodextrins on gluten-free dough and quality of bread." Journal of Food Engineering **96**(2): 258-265.

3. Masas ácidas de quinua obtenidas con iniciadores comerciales y su uso en panificación

3.1 INTRODUCCIÓN

La aplicación exitosa de la masa ácida en elaboración de horneados se basa principalmente en la selección de cultivos iniciadores (Moroni *et al.*, 2011). Para la elaboración de masas ácidas de quinua es necesario tener en cuenta características de la quinua como sustrato para la fermentación buscando cultivos iniciadores con posible capacidad de adaptación. La quinua como sustrato de fermentaciones acidolácticas difiere de los cereales por la presencia de compuestos antimicrobianos como saponinas y taninos, un perfil de aminoácidos diferente al de los cereales, especialmente alto en lisina y treonina (Vogelmann *et al.*, 2009), un mayor contenido de grasa (Coda *et al.*, 2010) y un alto contenido de cenizas que puede actuar como amortiguador de pH (Arendt *et al.*, 2007; Ravyts & De Vuyst, 2011; Rühmkorf *et al.*, 2012).

Aunque la masa ácida es una tecnología que ha sido usada desde la antigüedad, se ha determinado que es deseable el uso de cultivos iniciadores para garantizar la estabilidad del producto obtenido y limitar la posibilidad de contaminación. Actualmente existen iniciadores comerciales para la elaboración de masas ácidas de matrices como trigo o centeno, sin embargo, los iniciadores desarrollados para elaborar masa ácida a partir de cereales que contienen gluten no son adecuados para la fermentación de matrices libres de gluten (Moroni *et al.*, 2010), como es el caso de la quinua

Entre los microorganismos empleados para la elaboración de masa ácida con matrices libres de gluten, sobresalen algunas bacterias acidolácticas homofermentativas como *Lactococcus lactics*, *Lactobacillus delbrueckii*, *Lactobacillus helveticus* y algunas cepas de *Streptococcus* spp.

El uso de *Lactobacillus delbrueckii* como iniciador de masa ácida ha sido documentado indicando que cuenta con una alta capacidad de acidificación y otorga a sus productos de panificación un perfil de compuestos volátiles complejo que favorece su carácter

sensorial, mayor vida útil, volumen específico y resistencia al deterioro por hongos comparables a los obtenidos con masas ácidas de *L. helveticus* (Plessas *et al.*, 2008a; Plessas *et al.*, 2008b)

Lactobacillus helveticus ha demostrado ser altamente competitivo en fermentaciones de masa ácida de cereales y pseudocereales, aunque este microorganismo no es típico de las masas ácidas tradicionales por ser de carácter termófilo lo cual indica que a 30°C no se encuentra en su más alta competitividad, las cepas de esta especie han probado su aptitud como iniciadores de masa ácida, debido a su adaptabilidad, capacidad de utilizar diversos carbohidratos y un poderoso sistema proteolítico que también le permite la utilización de proteínas (Plessas *et al.*, 2008b; Vogelman *et al.*, 2009; Banu & Aprodu, 2012).

Lactococcus lactis es un candidato útil para la fermentación de masa ácida pues tiene la habilidad de formar exopolisacáridos sin adición de sacarosa y subsecuente menor formación de acetato (Galle *et al.*, 2011), esta especie puede contribuir a la mejora de propiedades sensoriales como textura y gusto en panes de masa ácida con harinas compuestas de mezclas de pseudocereales y leguminosas con alto contenido de lisina (Coda *et al.*, 2010).

Varias especies de *Streptococcus* se encuentran en productos fermentados tradicionales, con base en granos como centeno, sorgo y maíz y otras matrices amiláceas como yuca (Caplice & Fitzgerald, 1999; Taylor, 2004; Rocha & Malcata, 2012). Cepas comerciales de *Streptococcus thermophilus* han mostrado una fuerte actividad amilolítica y proteolítica en sorgo (Correia *et al.*, 2010).

En este estudio se emplearon cultivos iniciadores comerciales compuestos por bacterias acidolácticas homofermentativas para la elaboración de masas ácidas de quinua de la variedad dulce Facianar Aurora, que fueron caracterizadas y empleadas en panificación con el ánimo de mejorar las propiedades de textura, sensoriales y nutricionales en la calidad de panes con sustituciones de 40% de harina de trigo por harina de quinua.

3.2 MATERIALES Y MÉTODOS

Harinas

Las masas ácidas se elaboraron con harina de quinua de la variedad Facianar Aurora (QA) proveniente del municipio de Tuta, Boyacá y suministrada por un proveedor local. Esta variedad muestra una composición y comportamiento aptos para su inclusión en la panificación sustituyendo harina de trigo hasta en un 40% del total de la harina (capítulo 2). Para los ensayos de panificación y pruebas de reología se usó harina de trigo blanca para panificación de origen comercial (Harinera del Valle S.A).

Cultivos iniciadores

Aunque el uso de cultivos iniciadores compuestos por un solo microorganismo es interesante desde el punto de vista funcional y tecnológico, se ha comprobado que el uso de iniciadores compuestos de varios microorganismos favorecen la formación de compuestos de sabor y aroma (Ravyts & De Vuyst, 2011).

Se evaluaron tres cultivos acidolácticos comerciales liofilizados compuestos por bacterias acidolácticas homofermentativas y empleados en la industria láctea para la elaboración de quesos madurados, marca CHOOZIT (Danisco, Cimpa S.A, Bogotá- Colombia), Tabla 3-1(Fichas técnicas, ver ANEXO B).

Tabla 3-1. Composición de los tres (3) cultivos acidolácticos empleados en la preparación de masas ácidas de quinua

CULTIVO	COMPOSICIÓN
LH100	<i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. Lactis <i>Lactobacillus helveticus</i>
RA22	<i>Lactococcus lactis</i> subsp. lactis <i>Lactococcus lactis</i> subsp. cremoris <i>Streptococcus salivarius</i> subsp. thermophilus
BTO2	<i>Lactococcus Lactis</i> subsp. lactis <i>Lactococcus Lactis</i> subsp. cremoris <i>Lactococcus Lactis</i> subsp. lactis biovar. diacetylactis

Elaboración de masas ácidas – Fermentación acidoláctica

Se elaboraron masas ácidas tipo I compuestas por 100% quinua preparando mezclas de harina y agua para fermentar con un inóculo de 10^8 ufc/g de cada uno de los cultivos, en incubación a 30°C por 24h, con un rendimiento de masa de 200 (Ecuación 3-1) y un paso de propagación 1:10 fermentado de nuevo por 24h a 30°C (Sterr *et al.*, 2009). Las masas así obtenidas se emplearon para el análisis de composición y propiedades reológicas y para la elaboración de panes compuestos trigo-quinua con diferentes porcentajes de inclusión de masa ácida.

Ecuación 3-1. Rendimiento de masa.

Fuente:(Sterr *et al.*, 2009).

$$R = \frac{Wm}{Wh} \times 100$$

R: Rendimiento de masa

Wm: Peso de masa (g)

Wh: Peso de harina (g)

Adicionalmente se prepararon masas de 100% quinua y 100% trigo con rendimiento de masa de 200 y sin fermentar para su caracterización reológica (Moroni, Bello *et al.*, 2011) de acuerdo a la Tabla 3-2.

Tabla 3-2. Composición de las masas elaboradas para análisis y de los cultivos iniciadores utilizados

NOMBRE DE MASA	DESCRIPCIÓN
MALH	Masa ácida de quinua con cultivo iniciador LH100
MARA	Masa ácida de quinua con cultivo iniciador RA22
MABT	Masa ácida de quinua con cultivo iniciador BT02
MTR	Masa de trigo sin fermentar
MQA	Masa de quinua sin fermentar

Caracterización de masas ácidas

Evolución de la fermentación acidoláctica

Se siguió la evolución de la fermentación acidoláctica tomando a intervalos de dos horas muestras de masa que fueron suspendidas en agua destilada (1/10 p/p) (Moroni *et al.*, 2011), para determinar el pH (electrodo Hanna Instruments, USA), con tres réplicas por cada masa ácida.

Composición de masas ácidas

Al finalizar la fermentación se tomaron porciones de 50g de cada masa y se secaron por 12h a 60°C al igual que un control de quinua sin fermentar. Las muestras secas se analizaron para determinar su contenido de azúcares libres y ácidos orgánicos por HPLC de acuerdo a lo reportado por Cardona Jaramillo, (2011).

Se cuantificó la concentración de sacarosa, fructosa, glucosa, maltosa, ácido málico, succínico, cítrico, oxálico, láctico y acético por comparación de áreas y tiempos de retención con una curva de calibración obtenida por estándares certificados. Para el análisis se empleó una solución de H₂SO₄ 5 mM como fase móvil a un flujo de 0,5mL/min; la separación se realizó por medio de una columna Aminex® HPX-87H (Bio-Rad Laboratories®, California – USA) de intercambio iónico a una temperatura de 45°C (Chinnici *et al.*, 2002; Hernández *et al.*, 2007).

La extracción se realizó agregando 3 mL de solución ácida de H₂SO₄ 5 mM a 100 mg de muestra, agitando durante 15 min en un vortex y separando el sobrenadante por centrifugación a 10000 rpm durante 45 min, el cual fue filtrado con membranas PTFE de 0.45 µm e inyectado en el equipo HPLC (Agilent 1200 series, USA). Se prefirió la extracción con solución ácida debido a que niveles de pH bajos aseguran la estabilidad

del extracto por la disminución de la velocidad de reacciones de oxidación para los ácidos cuantificados (Yuan & Chen, 1998).

El sistema de separación acoplado en serie a un detector de arreglo de diodos (DAD), uno ultravioleta – visible (VWD) y uno de índice de refracción (RID) permitió la detección simultánea de los ácidos málico, succínico, cítrico, oxálico, láctico y acético a 214 nm y por variaciones en el índice de refracción de la fructosa, glucosa, sacarosa y maltosa en la muestra (Chinnici *et al.*, 2002; Usenik *et al.*, 2008).

Reología en deformaciones pequeñas

La masa es un material viscoelástico con propiedades no lineales, sin embargo, en el rango de deformaciones pequeñas sus propiedades reológicas pueden representarse por una combinación lineal de propiedades viscosas y elásticas (Witczak *et al.*, 2012).

Las propiedades reológicas de las masas ácidas obtenidas con los tres cultivos iniciadores empleados y de masas de trigo y de quinua elaboradas con rendimiento de 200 y sin fermentar se determinaron a 30°C empleando un reómetro Bohlin C-VOR (*Malvern Instruments, UK*) con una geometría de platos paralelos de 25 mm de diámetro y distancia entre platos de 1 mm. La temperatura fue controlada con un baño calefactor y la humedad de la muestra se mantuvo con una unidad Peltier, adicionalmente, cuando las muestras se cargaron en el sistema, se eliminó el exceso y se aplicó aceite mineral en el extremo expuesto para prevenir la pérdida de humedad durante la medición. Antes de iniciar cada prueba la muestra reposó por 5 minutos.

Las propiedades reológicas fundamentales fueron determinadas dentro de la zona de viscoelasticidad lineal, determinada mediante un barrido de amplitudes en el intervalo de 0.001 a 100% de deformación a una frecuencia constante de 1Hz. Cuando un material es evaluado en su zona lineal, sus características no dependen de la magnitud del esfuerzo, la magnitud de la deformación o la tasa de aplicación de la deformación. Cuando se aplica un esfuerzo lineal se producirá una respuesta de deformación proporcional al esfuerzo, de ahí la importancia de determinar las propiedades de un material viscoelástico dentro de la zona de viscoelasticidad lineal (Mariotti *et al.*, 2009).

El barrido de frecuencia muestra como el comportamiento viscoso y elástico del material cambia con la tasa de aplicación de esfuerzo o deformación mientras la amplitud de la señal se mantiene constante (Mariotti *et al.*, 2009). Se realizó un barrido de frecuencias bajo una deformación constante de 0,01% en el intervalo de frecuencias 0.1 a 10 Hz, determinando el módulo elástico o de almacenamiento (G' , Pa), el módulo viscoso o de pérdida (G'' , Pa), el módulo complejo (G^* , Pa), el ángulo de fase (δ) y la tangente del ángulo de fase. Dichas propiedades se relacionan de acuerdo con la Ecuación 3-2 y la Ecuación 3-3.

Ecuación 3-2. Relación de módulos viscoso y elástico mediante ángulo de fase

$$\tan \delta = \frac{G''}{G'}$$

G'' : módulo viscoso
 G' : módulo elástico
 δ : ángulo de fase

Ecuación 3-3. Relación lineal de módulos viscoso y elástico en módulo complejo

$$G^* = \sqrt{G'^2 + G''^2}$$

G'' : módulo viscoso
 G' : módulo elástico
 G^* : módulo complejo

Los resultados obtenidos para los módulos elástico y viscoso en función de la frecuencia se ajustaron a ecuaciones potenciales de acuerdo a lo reportado por diversos autores para masas de panificación (Mariotti *et al.*, 2009; Moroni *et al.*, 2011; Witczak *et al.*, 2012), según la Ecuación 3-4.

Ecuación 3-4. Ajuste de ley de potencias para módulos viscoso y elástico en función de la frecuencia

$$G'(\omega) = a' \cdot \omega^{b'}$$

$$G''(\omega) = a'' \cdot \omega^{b''}$$

a', b' : constantes elásticas
 a'', b'' : constantes viscosas

Ensayo de panificación

Se elaboraron panes con diferentes formulaciones (Tabla 3-3). La proporción de adjuntos (grasa, sal, azúcar y levadura) fue la misma de la formulación estandarizada en el capítulo 2.

Tabla 3-3. Tratamientos de ensayo de panificación con masa ácida de quinua

Ingredientes (g/100g harina)		Tratamientos							
		1	2	3	4	5	6	7	8
Harina de trigo		60	60	60	60	60	60		100
Harina de quinua aurora		40	20	-	20	-	20	-	-
Masa MALH		-	40	80	-	-	-	-	-
ácida de MABT		-	-	-	40	80	-	-	-
quinua MARA		-	-	-	-	-	40	80	-
Agua		57	37	17	37	17	37	17	55

El tratamiento 1 fue un pan con sustitución de la harina de trigo por 40% de harina de quinua sin adición de masa ácida y el tratamiento 8 un pan control 100% trigo. Los tratamientos 2 a 7 fueron panes con sustitución de la harina de trigo por 40% de harina de quinua, de la cual el 50% o el 100% fue aportada por masa ácida obtenida con los tres diferentes cultivos iniciadores.

La masa ácida en las formulaciones que la contenían, fue equivalente al 22 y 39% del total de la masa para panificación, valores que se encuentran dentro del intervalo frecuente de uso, que va del 5 al 50% de la masa (Houben *et al.*, 2010; Flander *et al.*, 2011; Minervini *et al.*, 2011; Moroni *et al.*, 2011; Alaunyte *et al.*, 2012).

Para el pan control (tratamiento 8) se usó un porcentaje de hidratación del 55% y para los panes compuestos trigo-quinua, con y sin masa ácida se ajustó a 57% de acuerdo a los resultados descritos en el capítulo 2 con respecto al nivel óptimo de hidratación de las masas para panificación con inclusión de quinua.

Los panes se obtuvieron de acuerdo al proceso de la Figura 2-1 previamente estandarizado, para cada formulación se mezclaron los ingredientes secos en una batidora Hobart N50, se adicionó el agua y la masa ácida en los tratamientos que la incluían, y se amasó por 5 minutos. Así se obtuvieron 3 réplicas de 400g de masa que se formaron y se introdujeron en moldes rectangulares de 5 x 8 x 4 cm previamente engrasados, se leudaron en un cuarto leudante por 45 minutos a $32\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ y 80% HR y se hornearon a 176°C ($350\text{ }^{\circ}\text{F}$) por 30 minutos en un horno de conducción.

Posteriormente las muestras se enfriaron a temperatura ambiente por 2 horas y se procedió a su análisis.

Análisis instrumental de textura

Se determinó el perfil instrumental de textura de los panes obtenidos de acuerdo a la metodología descrita en el capítulo 2. No se reportan resultados para la medición de dureza de corteza pues en algunas muestras la corteza obtenida fue muy frágil e irregular, lo cual ocasionó mediciones inaceptables con un coeficiente de variación de más del 20%.

Volumen específico

Se determinó el volumen específico (mL/g) calculado como la relación del volumen del pan y su peso de acuerdo a la metodología descrita en el capítulo 2.

Pérdida de humedad en la cocción

La pérdida porcentual de humedad en la cocción se determinó como la relación del peso del pan y el peso de la masa antes del horneado (Ecuación 3-5).

Ecuación 3-5. Relación de pérdida de humedad en la cocción para panes evaluados

$$\%phc = \frac{W_p}{W_{mc}} \times 100$$

$\%phc$: pérdida porcentual de humedad en la cocción
 W_p : Peso del pan (g)
 W_{mc} : peso de masa antes del horneo (g)

Color

Se determinó el color de la miga y el color de la corteza empleando un colorímetro Minolta CR 300 calibrado con patrón iluminante D₆₅/10° en el espacio de color CieLab, los resultados se expresaron en coordenadas L, a y b.

Fenoles totales

Se realizó la determinación de compuestos fenólicos totales en los panes empleando el método Folin-Ciocalteu (Ainsworth & Gillespie, 2007; Cicco *et al.*, 2009). 100 mg de pan seco y molido fueron extraídos durante 1 h con agitación constante en vortex con 1mL de metanol-agua al 70%, luego la extracción fue centrifugada a 10000 rpm durante 10 min tomando el sobrenadante para su análisis.

100μL de la solución de extracción fueron mezclados con 200μL del reactivo de Folin - Ciocalteu (diluido 1:10 en agua destilada) durante 2 min. Acto seguido se adicionaron 800μL de Na₂CO₃ 700mM y se dejó continuar la reacción en condiciones de oscuridad y temperatura ambiente durante 2 h. 100μL de esta mezcla de reacción fueron analizados espectrofotométricamente a 710nm y la absorbancia obtenida fue cotejada con la curva de calibración elaborada por la reacción del reactivo de Folin – Ciocalteu con diferentes concentraciones de ácido gálico (15 – 150 ppm), expresando los resultados en términos de gramos equivalentes de ácido gálico (GAE) por gramo de peso seco.

Capacidad antioxidante-prueba de Takao

Se determinó la capacidad antioxidante mediante la prueba cualitativa de Takao (Chitnis *et al.*, 2007). Esta prueba está basada en la decoloración del reactivo DPPH que cuando hay actividad antioxidante pasa de morado intenso a amarillo al reaccionar con el extracto obtenido como se describe a continuación:

100 mg de pan seco y macerado fueron extraídos con 1 mL de una mezcla metanol: agua acidificada (pH = 1), con agitación constante durante una hora en vortex. Posteriormente la muestra fue centrifugada a 15000 rpm durante 15 minutos, se retiró el sobrenadante y la fase sólida fue sometida a una segunda extracción con 1mL de acetona:agua con agitación constante durante una hora en vortex y posterior centrifugación a 15000 rpm durante 15 minutos para tomar el sobrenadante. Ambos sobrenadantes fueron reunidos y llevados a un volumen de 2mL.

100µL del extracto obtenido se hicieron reaccionar en una placa excavada de cerámica con el reactivo DPPH en exceso, empleando agua destilada como blanco y TROLOX como control positivo. En esta prueba cualitativa no se registró actividad antioxidante por lo que no se procedió a cuantificación.

Análisis proximal

La composición de los panes se obtuvo según los métodos para el análisis proximal descritos en el capítulo 2.

Prueba de aceptación de consumidores

Los panes elaborados fueron evaluados con una prueba de aceptación de consumidores (Meilgaard *et al.*, 1999; ICONTEC, 2007; Balestra *et al.*, 2011) por 34 hombres y mujeres entre 18 y 45 años, personal de la Sede Bogotá de la Universidad Nacional de Colombia. Las muestras se presentaron a los consumidores codificadas con un número de tres dígitos al azar. Para cada muestra, los consumidores puntuaron aceptación global con base en apariencia, sabor y textura de la muestra en una escala hedónica de 5 puntos, de acuerdo a la Tabla 3-4.

Tabla 3-4. Escala hedónica de 5 puntos empleada para prueba de consumidores

Puntuación	Significado
1	Me disgusta mucho
2	Me disgusta
3	No me gusta ni me disgusta
4	Me gusta
5	Me gusta mucho

Adicionalmente se determinó el porcentaje de aceptación de cada tratamiento como la relación del puntaje total obtenido y el máximo puntaje obtenible (5 puntos), de acuerdo a la Ecuación 3-6.

Ecuación 3-6. Porcentaje de aceptación de consumidores para panes evaluados

$$\%Ac = \frac{Pm}{5} \times 100$$

%Ac: Porcentaje de aceptación
Pm: puntaje de la muestra

Tratamiento estadístico.

Los datos obtenidos fueron sometidos a análisis de varianza ANOVA, con una prueba de comparación múltiple (LSD) de diferencia mínima significativa, y cuando se indica, comparación con un control mediante el test de Dunnett de dos vías, y contrastes entre tratamientos con la prueba de Scheffe, empleando el software Statistix 9.

Los resultados del análisis sensorial se sometieron a un análisis de varianza no paramétrico de una vía Kruskal- Wallis, empleando el software Statistix 9. .

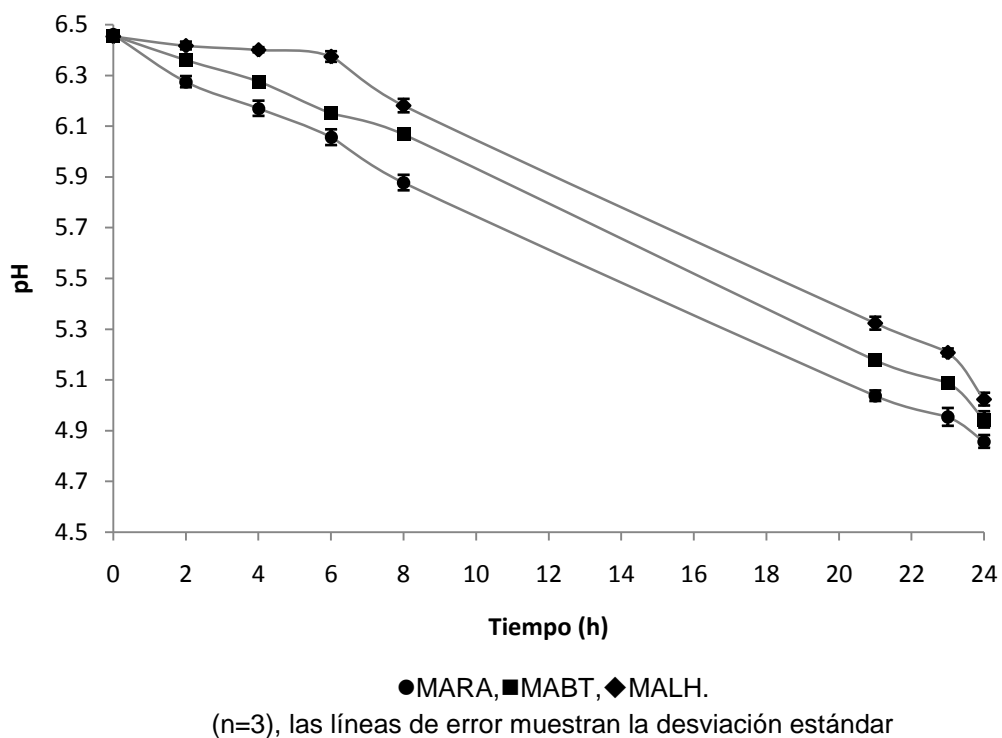
3.3 RESULTADOS Y ANÁLISIS

Caracterización de masas ácidas

Evolución de la fermentación acidoláctica

La Figura 3-1 muestra los resultados de la determinación del pH durante la fermentación de masas de quinua con diferentes cultivos iniciadores. La evolución del pH durante la fermentación permite inferir que los cultivos presentaron diferentes actividades, RA22 acidificó rápidamente el medio mientras que LH100 presentó inicialmente una acidificación lenta y luego de 6 h aumentó la velocidad de acidificación. BT02 presentó una acidificación intermedia en comparación con los demás cultivos. Transcurridas 24h todos los cultivos se encontraron en fase exponencial, comportamiento que correspondió al de masas ácidas tipo I (Gobetti *et al.*, 2008).

Figura 3-1. Cambio del pH durante la fermentación de masas de quinua con diferentes cultivos iniciadores.



La masa ácida obtenida con el cultivo RA22 (MARA) presentó el pH final más bajo con un valor de 4.86 seguida de la masa ácida obtenida con el cultivo BT02 (MABT) con un pH final de 4.94 y la masa ácida obtenida con el cultivo LH100 (MALH) con un pH final de 5.02.

El pH final de las masas ácidas elaboradas fue mayor a lo reportado para masas ácidas tipo I elaboradas con quinua sola o en mezcla con otros granos (Vogelmann *et al.*, 2009; Coda *et al.*, 2010) y otros pseudocereales como amaranto (Houben *et al.*, 2010). El pH de una masa ácida madura varía con la naturaleza del proceso, la composición de la harina y el cultivo iniciador usado, para masas ácidas de trigo se reporta un intervalo de 3.5 a 4.3. La naturaleza de la harina, en particular su contenido de cenizas tiene un efecto considerable en las características de acidificación (Arendt *et al.*, 2007; Ravyts & De Vuyst, 2011; Rühmkorf *et al.*, 2012).

El comportamiento observado se puede deber a que el alto contenido de cenizas, de 2% en base seca en la harina de quinua Facianar Aurora vs. 0.7% en la harina de trigo usada en este estudio, puede estar actuando como amortiguador de pH. Este descenso gradual de pH afecta la actividad enzimática de los microorganismos involucrados en la fermentación acidoláctica (Katina *et al.*, 2005; Arendt *et al.*, 2007), lo cual contribuye a explicar los resultados obtenidos con respecto a la composición de las masa ácidas.

Composición de masas ácidas

La Tabla 3-5 muestra los resultados de la determinación de azúcares y ácidos orgánicos en las masas ácidas obtenidas y su comparación con un control de quinua sin fermentar mediante el test de Dunnett de dos vías.

La producción de metabolitos durante la fermentación de masa ácida depende de la disponibilidad de carbohidratos solubles, tanto presentes inicialmente en la harina como resultantes de la hidrólisis de almidón o fructosanos. La fracción de carbohidratos sufre cambios importantes durante la fermentación debido a las reacciones enzimáticas y metabólicas de los microorganismos involucrados (Lefebvre *et al.*, 2002).

En la harina de quinua sin fermentar (MQA) se identificó glucosa como el azúcar predominante, coincidiendo con reportes de literatura (Bhargava *et al.*, 2006; Schoenlechner *et al.*, 2008). Al respecto la literatura presenta diferentes resultados, indicando otros azúcares como predominantes: sacarosa, D-xylosa y maltosa (Tapia *et al.*, 2000; Ogungbenle, 2003. ; Bhargava *et al.*, 2006; Schoenlechner *et al.*, 2008; Miranda *et al.*, 2010; Miranda *et al.*, 2012). Estas diferencias pueden estar relacionadas con diferentes factores, como las variedades específicas, las condiciones de cultivo, acondicionamiento y almacenamiento en poscosecha y el procesamiento (Miranda *et al.*, 2010). Los valores encontrados para todos los azúcares analizados se encuentran en el intervalo de lo reportado por los autores anteriormente mencionados, que va de 19 a 2900 mg/100g.

Tabla 3-5. Cuantificación de azúcares y ácidos orgánicos en masa de quinua sin fermentar y masas ácidas obtenidas con diferentes con cultivos iniciadores.

Metabolito (mg/100g)	MQA	MARA	MABT	MALH	VC
Sacarosa	147.7 ± 9.1 ^a	166.9 ± 28.8 ^a	135.9 ± 5.9 ^a	165.0 ± 39.2 ^a	58.6
Glucosa	934.3 ± 61.0 ^a	477.8 ^v ± 85.9 ^{bc*}	413.7 ± 20.6 ^{c*}	583.3 ± 56.2 ^{c*}	142.5
Fructosa	64.4 ± 3.7 ^a	12.8 ± 0.9 ^{b*}	NR ^{c*}	15.9 ± 4.4 ^{b*}	6.8
Maltosa	54.5 ± 3.2 ^b	51.5 ± 1.3 ^{bc}	48.6 ± 1.8 ^{c*}	75.5 ± 0.7 ^{a*}	4.6
Ácido Cítrico	9.6 ± 0.6 ^a	NR ^{b*}	NR ^{b*}	NR ^{b*}	0.8
Ácido Málico	9.3 ± 0.1 ^a	NR ^{b*}	NR ^{b*}	NR ^{b*}	0.1
Ácido Oxálico	9.1 ± 0.5 ^c	13.2 ± 1.4 ^{a*}	10.7 ± 0.3 ^{bc}	11.6 ± 1.2 ^{ab*}	2.3
Ácido Succínico	NR ^c	NR ^c	21.5 ± 0.9 ^{a*}	16.6 ± 0.9 ^{b*}	1.6
Ácido Láctico	53.2 ± 3.6 ^c	509.7 ± 17.7 ^{a*}	445.7 ± 16.2 ^{ab*}	420.2 ± 21.8 ^{b*}	90.2
Ácido Acético	NR	NR	NR	NR	

Las variables con la misma letra en el superíndice no muestran diferencias significativas entre sí (n=3, α=0,05).

Los tratamientos marcados con asterisco (*) tienen diferencias significativas con el control (MQA)

VC: valor crítico de comparación con el control (MQA) en el test de Dunnett de dos vías.

NR: No registra. Valor por debajo del límite de detección. Para efectos estadísticos cuenta como un cero.

El contenido de azúcares y ácidos orgánicos en las masas ácidas (MARA, MABT y MALH) con respecto a la composición de la masa sin fermentar (MQA) permitió determinar que durante el proceso de fermentación acidoláctica hubo consumo y generación de metabolitos dependiendo del cultivo iniciador empleado. La Tabla 3-6 muestra la comparación por el test de Scheffe entre las masas obtenidas con los diferentes cultivos iniciadores.

En cuanto al consumo de carbohidratos todos los cultivos iniciadores consumieron cerca de la mitad del contenido de glucosa, sin presentar diferencias entre sí, con un mayor consumo por parte del cultivo BT02, seguido de RA22 y LH100. El contenido de fructosa disminuye significativamente durante la fermentación acidoláctica, indicando que fue usada como aceptor de electrones. El cultivo BT02 presentó el mayor consumo de fructosa diferenciándose de los demás cultivos, mientras que los cultivos RA22 y LH100 presentaron un menor consumo de este metabolito sin diferencias entre sí.

Los cultivos RA22 y BT02 presentaron consumo de maltosa, siendo mayor para BT02 aunque sin diferencias significativas. El cultivo LH100 generó una cantidad significativa de maltosa. El contenido de maltosa puede incrementarse durante la fermentación de masa ácida por la actividad hidrolítica de amilasas en la fracción de almidón, resultados similares se han obtenido con cepas de *L. plantarum* y *Leuconostoc mesenteroides* (Lefebvre *et al.*, 2002).

Tabla 3-6. Contrastes para variables de composición entre masas ácidas de quinua obtenidas con diferentes cultivos iniciadores mediante el test de Scheffe

Metabolito mg/100g	MARA vs. MABT		MABT vs. MALH		MARA vs. MALH	
Sacarosa	166.9	135.9	135.9	165.0	166.9	165.0
	NS		NS		NS	
Glucosa	477.8	413.7	413.722	583.3	477.8	583.3
	NS		NS		NS	
Fructosa	12.8	NR	NR	15.9	12.8	15.9
	**		**		NS	
Maltosa	51.5	48.6	48.593	75.5	51.5	75.5
	NS		**		**	
Ácido Cítrico	NR	NR	NR	NR	NR	NR
	NS		NS		NS	
Ácido Málico	NR	NR	NR	NR	NR	NR
	NS		NS		NS	
Ácido Oxálico	13.2	10.7	10.732	11.6	10.7	11.6
	NS		NS		NS	
Ácido Succínico	NR	21.5	21.468	16.6	NR	16.6
	**		**		**	
Ácido Láctico	509.7	445.7	445.688	420.3	509.7	420.3
	NS		NS		NS	
Ácido Acético	NR	NR	NR	NR	NR	NR
	NS		NS		NS	

Los contrastes señalados con * presentan diferencia significativa ($P < 0,05$) y señalados con ** son altamente significativos ($P < 0,01$).

NS indica que no hay diferencias significativas.

NR: No registra. Valor por debajo del límite de detección. Para efectos estadísticos cuenta como un cero.

El rápido descenso del pH en las masas ácidas puede causar una actividad amilolítica reducida, mientras que un descenso más gradual permite una posterior degradación del almidón (Katina *et al.*, 2005). Este resultado indica que las bacterias *Lactobacillus delbrueckii* subsp. Lactis y *Lactobacillus helveticus* presentaron una mayor actividad amilolítica, que *Streptococcus salivarius* y *Lactococcus lactis*, también empleadas en este estudio, debido a una acidificación más lenta, como se observó en el seguimiento de la evolución del pH durante la fermentación acidoláctica.

El contenido de sacarosa no varió significativamente en la fermentación, y a su vez no se registró producción de ácido acético, lo cual indica que al no haber consumo de

sacarosa por parte de los microorganismos en la masa ácida la producción de acetato se vio limitada, disminuyendo el riesgo de afectar negativamente el sabor de los productos obtenidos con las masas ácidas elaboradas. La formación de ácido acético durante la fermentación es el principal factor que aumenta el sabor pungente en panes de masa ácida (Katina *et al.*, 2006).

La quinua sin fermentar presentó un contenido de ácido cítrico de 9,561 mg/100g y un contenido de ácido málico de 9,264mg/100g que se consumieron durante la fermentación acidoláctica con todos los cultivos iniciadores.

Se produjo ácido oxálico, sin encontrar diferencias entre cultivos iniciadores. La magnitud de la producción de ácido oxálico fue insignificante con respecto a la de ácido láctico. También se registró producción de ácido succínico por parte de los cultivos BT02 y LH100, siendo significativamente mayor para el cultivo BT02. La producción de ácido succínico se explica al ser este uno de los posibles productos finales del metabolismo de citrato en bacterias acidolácticas (Gänzle *et al.*, 2007).

El ácido láctico fue el metabolito producido predominante, no se encontró producción de ácido acético, lo cual corresponde con el carácter homofermentativo de los cultivos empleados como iniciadores. No hubo diferencia significativa entre cultivos con respecto a la producción de ácido láctico. RA22 produjo la mayor cantidad (509.7 ± 17.7 mg/100g) seguido de BT02 (445.7 ± 16.2 mg/100g) y LH100 (420.2 ± 21.8), lo cual concuerda con el comportamiento observado en la evolución de la fermentación y explica que el principal metabolito que contribuyó al descenso del pH fue el ácido láctico producido. Así mismo, de acuerdo al patrón de consumo de glucosa, se infiere que este fue el principal sustrato para la producción de ácido láctico por la vía Emden-Meyerhoff.

El metabolismo de hexosas por la vía Emden-Meyerhoff lleva a la producción de lactato con piruvato como intermediario central del metabolismo. Existen numerosas vías alternativas para el consumo de piruvato en las bacterias acidolácticas y otros metabolitos diferentes al lactato pueden ser mayoritariamente producidos a partir de hexosas en condiciones de limitación de glucosa en la presencia de oxígeno como aceptor de electrones. Sin embargo, el lactato es el mayor producto final de la fermentación de hexosas en la masa ácida (Gänzle *et al.*, 2007).

El contenido de ácido láctico encontrado en la quinua sin fermentar se explica en el tratamiento dado a esta muestra. Debido a que se ha comprobado que el secado, incluso a bajas temperaturas, afecta la composición de azúcares de la quinua, principalmente por degradación de la sacarosa atribuida a hidrólisis (Miranda *et al.*, 2010). La muestra analizada fue harina que se hidrató al mismo nivel que las masas ácidas y se secó en las mismas condiciones, esto para evitar interpretaciones erróneas con respecto al consumo de carbohidratos en la fermentación acidoláctica por la degradación de la muestra durante el secado. Teniendo en cuenta lo anterior, es posible que en la quinua se

encontraran microorganismos endógenos atribuibles a la harina o provenientes de los equipos empleados, que durante el corto tiempo en el que hubo agua disponible en la muestra, realizaran una fermentación acidoláctica. Si bien la harina empleada se caracterizó como materia prima verificando la ausencia de patógenos, no se realizó un estudio exhaustivo de los microorganismos presentes. La identificación de bacterias acidolácticas endógenas en la harina de quinua puede contribuir a la selección de cultivos iniciadores buscando interacciones positivas.

Reología en deformaciones pequeñas

La evaluación de la reología de las masas ácidas se realizó para determinar los cambios en la estructura de las masas de quinua debido a la fermentación acidoláctica y establecer si estas modificaciones ocasionan que las masas ácidas tengan un comportamiento más cercano al del trigo, es decir, puedan reforzar la estructura que se debilita en las masas para panificación cuando se sustituye harina de trigo por harina de quinua.

Las condiciones de baja deformación usadas para las mediciones oscilatorias son a menudo inapropiadas para las situaciones prácticas de proceso debido a que estas se llevan a cabo en condiciones muy diferentes a aquellas experimentadas por la masa durante el procesamiento o el horneado. Estas bajas deformaciones que permiten tomar medidas pero no disturban o destruyen la estructura inherente son de gran valor en el estudio de la influencia y las acciones de los ingredientes debido a que los parámetros mecánicos dinámicos son muy sensibles a la composición química y la estructura física del material a analizar (Steffe, 1996; Mariotti *et al.*, 2009).

Aunque todas las masas evaluadas tuvieron un nivel de hidratación similar al haber sido formuladas con el mismo rendimiento ($R=200$), presentaron diferencias evidentes en términos de las propiedades reológicas fundamentales. La

Figura 3-2 muestra el módulo complejo de las masas analizadas, obtenido en la zona de viscoelasticidad lineal como función de la frecuencia angular. El valor del módulo complejo (G^*) y de los módulos viscoso (G'') y elástico (G') aumentó proporcional a la frecuencia angular, comportamiento que se acentuó en las mayores frecuencias.

En todos los casos el módulo elástico (G') fue mayor al módulo viscoso (G''), lo cual se refleja en valores de la tangente del ángulo de fase menores a 1 e indica una predominancia del carácter elástico sobre el viscoso (Figura 3-3). Los valores de $\tan\delta$, entre 0.32 y 0.6 y el comportamiento de la evolución de los módulos viscoso y elástico con el aumento de la frecuencia indican que las masas evaluadas se comportaron como geles (Mariotti *et al.*, 2009; *et al.*, 2012).

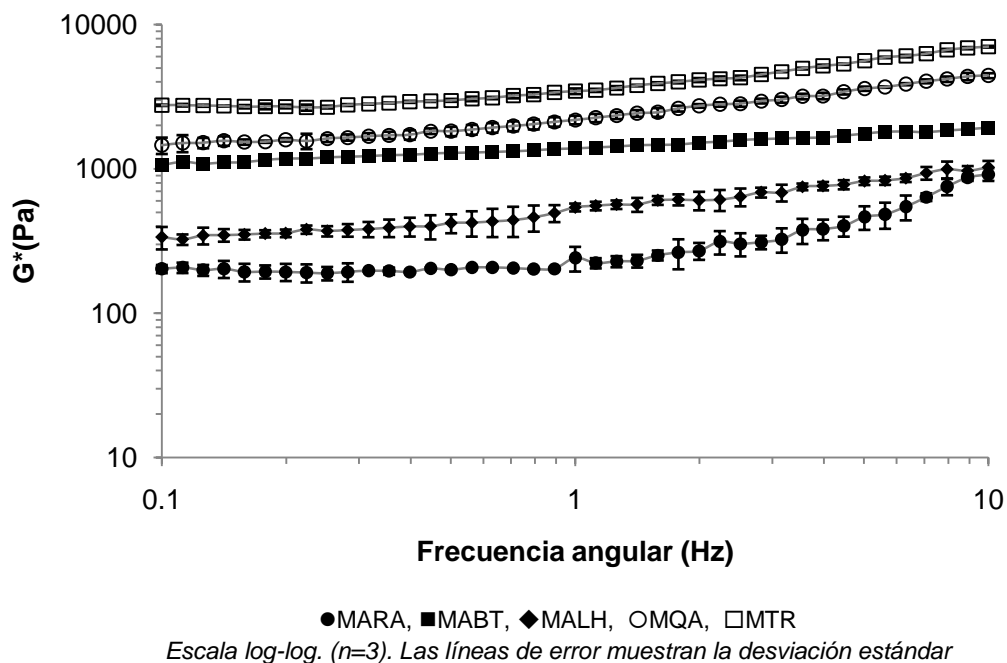


Figura 3-2. Módulo complejo (Pa) como función de la frecuencia (Hz) para masas ácidas de quinua y masas de quinua y trigo sin fermentar.

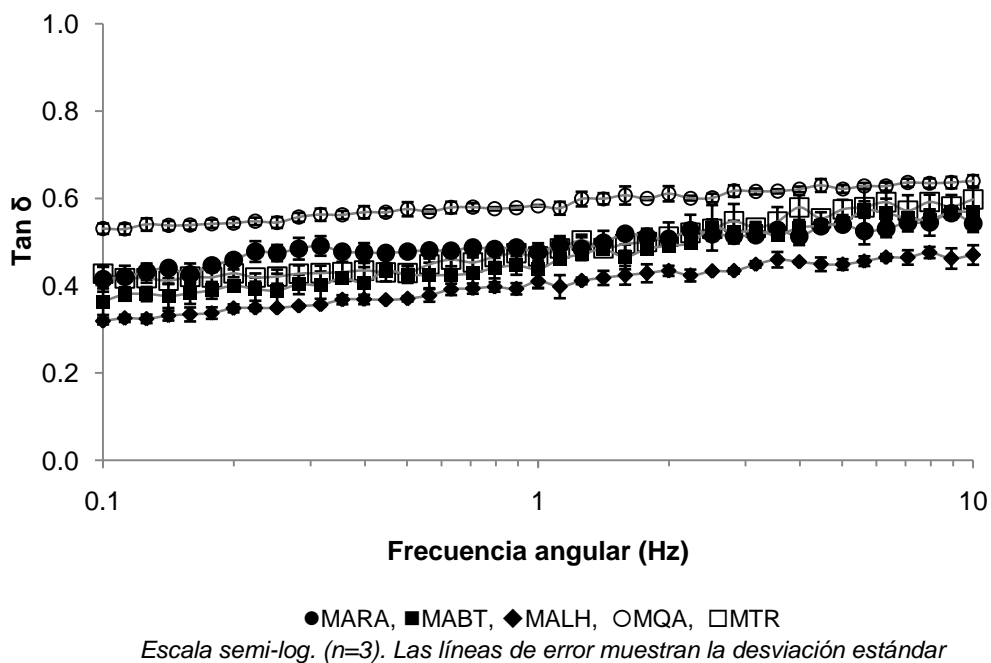


Figura 3-3. Tangente del ángulo de fase (δ) como función de la frecuencia (Hz) para masas ácidas de quinua y masas de quinua y trigo sin fermentar

Se obtuvieron resultados similares en masas libres de gluten con almidones modificados e hidrocoloides, (Witczak *et al.*, 2010; Witczak *et al.*, 2012), masas libres de gluten a partir de mezclas de granos, incluyendo pseudocereales (Mariotti *et al.*, 2009) y masas ácidas de pseudocereales (Moroni *et al.*, 2011), todas buscando emular el comportamiento de las masas de trigo.

La Tabla 3-7 presenta los valores del módulo complejo y el ángulo de fase, para todas las muestras a 1 Hz, comparados estadísticamente, si bien estos valores no reflejan el comportamiento de todo el espectro mecánico, su comparación permite determinar la diferencia de la magnitud de estas variables entre los tratamientos realizados

Tabla 3-7. Módulo complejo (G^* , Pa) y tangente del ángulo de fase para masas analizadas a 1Hz.

MASA	G^* (Pa)	Tan δ
MTR	3134.899 \pm 139.366 ^a	0.467 \pm 0.016 ^b
MQA	1890.778 \pm 130.030 ^b	0.583 \pm 0.002 ^a
MABT	1388.038 \pm 33.972 ^c	0.438 \pm 0.044 ^{bc}
MALH	542.288 \pm 33.972 ^d	0.410 \pm 0.015 ^c
MARA	241.931 \pm 33.972 ^e	0.477 \pm 0.020 ^b
CVIsd	167.45	0.0431

Las variables con la misma letra en el superíndice no muestran diferencias significativas entre sí ($n=3$, $\alpha=0,05$). CVIsd. Valor crítico de comparación por mínima diferencia significativa (Isd)

La magnitud de G^* fue diferente para todas las masas evaluadas. La masa de trigo (MTR) presenta los mayores valores, seguida de la masa de quinua sin fermentar (MQA). Las masas ácidas presentaron valores menores, lo que indica que la fermentación redujo la resistencia de la masa a la deformación. La masa ácida obtenida con el cultivo BT02 (MABT) presentó el mayor valor de G^* , con un comportamiento más cercano al de MQA. Las masas ácidas obtenidas con los cultivos LH100 (MALH) y RA22 (MARA) tuvieron los menores valores, en ese orden.

Este efecto ha sido documentado con anterioridad en masas ácidas de pseudocereales, Houben *et al.*, (2010) observaron que la fermentación acidoláctica de masas de amaranto con rendimiento de 200 llevo a una pérdida de la estructura que se tradujo en masas más suaves (G^* menores), dado que la producción de exopolisacáridos refuerza la estructura, estos autores infieren que no hubo producción de estos metabolitos. La masa ácida es menos elástica, menos firme y más fácilmente extensible, teniendo mayores ángulos de fase y menores G^* . Cuando se adiciona masa ácida hay cambios en las propiedades

reológicas fundamentales de masas de trigo, haciéndolas más elásticas y suaves y por tanto fácilmente extensibles (Angioloni *et al.*, 2006)

Cuanto menor es el valor de $\tan\delta$, mayor la diferencia entre módulos, lo que indica predominancia del carácter elástico, mientras que al contrario, cuando este valor es mayor existe un mejor balance entre los dos módulos, viscoso y elástico, obteniendo materiales menos rígidos (Mariotti *et al.*, 2009). El material menos rígido fue la masa de quinua sin fermentar, mientras que en la masa de trigo hubo mayor predominancia del carácter elástico. Las masas fermentadas con los cultivos RA22 y BT02 fueron similares a la masa de trigo en esta característica, mientras que la masa fermentada con el cultivo LH100 fue aún más rígida.

La masa de quinua sin fermentar fue más fluida y menos resistente a la deformación que la masa de trigo. Al modificar la estructura de la masa de quinua mediante fermentación acidoláctica, en general, se obtuvieron masas menos resistentes a la deformación y más rígidas, con diferencias de acuerdo al cultivo iniciador utilizado.

Para tener una mejor comparación del espectro mecánico se realizó el ajuste de los módulos viscoso y elástico en función de la frecuencia angular a ecuaciones de ley de potencias (Tabla 3-8). Dicho ajuste mostró un buen coeficiente de correlación para las muestras analizadas ($R^2 > 0.92$), excepto para la masa fermentada con el cultivo RA22 (MARA), pues en esta masa un mayor aumento del valor de los módulos en las mayores frecuencias resultó en menores coeficientes de correlación ($R^2 < 0.8$).

En las constantes de ajuste, “a” es un índice de consistencia que representa la fuerza de las interacciones, mayores valores de “a” indican mayor consistencia del material. Por su parte, mayores valores de “b” indican mayor dependencia de la estructura a la deformación, debida a un menor número de interacciones (Mariotti *et al.*, 2009; Moroni, Bello *et al.*, 2011).

Tabla 3-8. Constantes de ajuste de los módulos viscoso y elástico a ecuaciones de ley de potencias.

	MTR	MQA	MABT	MALH	MARA
a'	3371.3 ± 34.2 ^a	1995.3 ± 44.5 ^b	1278.0 ± 32.5 ^c	492.4 ± 36.9 ^d	247.4 ± 20.1 ^e
b'	0.200 ± 0.002 ^c	0.240 ± 0.008 ^b	0.107 ± 0.004 ^d	0.243 ± 0.002 ^b	0.275 ± 0.004 ^a
R ² '	0.922 ± 0.016	0.951 ± 0.049	0.979 ± 0.036	0.928 ± 0.124	0.720 ± 0.041
a''	1632.0 ± 47.5 ^a	1167.0 ± 19.0 ^b	585.9 ± 24.2 ^c	195.8 ± 17.5 ^d	121.7 ± 0.326 ^e
b''	0.289 ± 0.009 ^b	0.282 ± 0.012 ^b	0.208 ± 0.026 ^c	0.329 ± 0.008 ^a	0.326 ± 0.002 ^a
R ² ''	0.937 ± 0.006	0.965 ± 0.033	0.980 ± 0.035	0.955 ± 0.068	0.787 ± 0.035

Las variables con la misma letra en el superíndice no muestran diferencias significativas entre sí (n=3, $\alpha=0,05$).

Los valores de las constantes “a” y “a’” indican que la masa con mayor consistencia fue la masa de trigo, la masa de quinua sin fermentar fue menos consistente debido a la ausencia de gluten, y la fermentación causó una pérdida de esta característica, dependiendo del cultivo utilizado.

El cultivo RA22 generó la mayor acidificación y su uso resultó en la masa menos consistente y más dependiente de la deformación (MARA) con un comportamiento más cercano al de una solución concentrada que al de un gel, de acuerdo a lo reportado por (Steffe, 1996).

El cultivo LH100 generó la menor acidificación pero una mayor hidrólisis de almidón, que se vio reflejada en el aumento del contenido de maltosa en la masa ácida obtenida con este cultivo con respecto a la masa de quinua sin fermentar. El análisis del espectro mecánico de la masa fermentada con LH100 permitió inferir que con respecto a la masa de quinua sin fermentar hubo una pérdida de consistencia y un aumento en el carácter viscoso. Un efecto similar ha sido reportado para masas ácidas de alforfón en las cuales la hidrólisis de proteínas, y posiblemente de almidón fueron responsables de un descenso en la elasticidad (Moroni *et al.*, 2011).

El cultivo BT02 presentó una acidificación intermedia y su consumo y generación de metabolitos mostraron un comportamiento diferenciado al consumir más fructosa y generar más ácido succínico que los demás cultivos. La masa ácida obtenida con este cultivo (MABT) presentó la menor pérdida de consistencia, un mejoramiento de su carácter elástico (b' es menor, indicando más interacciones elásticas en la estructura) y pérdida de carácter viscoso con respecto a la masa de quinua sin fermentar. Esto puede indicar que existe generación de exopolisacáridos por parte del cultivo BT02 o que se favoreció la gelatinización del almidón.

Ensayo de panificación

La evaluación de los efectos de la fermentación acidoláctica no está completa sin el análisis del comportamiento de las masas ácidas obtenidas en las condiciones del proceso de panificación, pues si bien las mediciones reológicas y de composición permiten dar una idea del tipo de estructura que forma la masa, las predicciones de su comportamiento en la panificación no son suficientes ya que la masa es sometida a grandes esfuerzos y su estructura cambia por la acción de la temperatura, y en las temperaturas altas del horneado algunas reacciones químicas pueden o no ser favorecidas por la composición de la masa, todo lo anterior afectará las características del pan como producto final del proceso.

Dicho análisis se llevó a cabo en este estudio mediante un ensayo de panificación incluyendo las masas ácidas obtenidas en la formulación de panes con sustitución de 40% de harina de trigo por harina de quinua (ver Tabla 3-3).

Se observó que la composición y propiedades reológicas de las masas ácidas obtenidas variaron con respecto al cultivo iniciador empleado. De manera general la textura, volumen específico, color, aceptación sensorial y características nutricionales se vieron afectados por el tipo de masa ácida (cultivo iniciador empleado para su fermentación) y su porcentaje de inclusión en el total de la masa para panificación.

Estos efectos se pueden deber tanto al cambio en la composición de las masas para panadería al incluir en estas masa ácida, lo que genera acidificación y cambios en el contenido de carbohidratos solubles y posiblemente aminoácidos libres a causa de la proteólisis que ocurre en la fermentación; como al cambio en sus propiedades reológicas, específicamente con respecto al hinchamiento del almidón y el efecto que la acidificación tiene en la estructura que forma el gluten y los complejos proteína-almidón.

La Figura 3-4 muestra los panes obtenidos en el ensayo de panificación con masas ácidas de quinua. En general se observa que la adición de masa ácida genera panes con corteza frágil, miga más irregular y color más pardo, especialmente en los mayores porcentajes de adición.

Análisis instrumental de textura

El uso de masa ácida generó panes con mayor dureza (Tabla 3-9), con un efecto tan marcado que en comparación con el pan con sustitución de 40% de harina de trigo por harina de quinua (tratamiento 1) no se diferenció del pan 100% trigo (tratamiento 8). Mientras que en el estudio del efecto de la sustitución de harina de trigo por harina de quinua en la calidad del pan (capítulo 2, aparte 2.4), en el que no se contaba con panes de masa ácida, si se detectaron diferencias entre un pan 100% trigo y un pan con sustitución de 40% de quinua de la variedad Facianar Aurora.

Como se puede ver en la Tabla 3-10, los panes con la masa ácida obtenida con el cultivo BT02 (MABT, tratamientos 4 y 5) fueron significativamente más duros que los panes con la masa ácida obtenida con el cultivo RA22 (MARA, tratamientos 6 y 7) y los panes con la masa ácida obtenida con el cultivo LH100 (MALH, tratamientos 2 y 3), que no se diferencian entre sí. En general no hubo diferencia entre porcentajes de inclusión de masa ácida, sin embargo los panes con el mayor porcentaje de MABT fueron más duros, mientras que para MARA el mayor porcentaje de inclusión de masa ácida generó panes menos duros.



Tratamiento 1: Pan con 40% quinua sin fermentar



Tratamiento 8: Pan 100% trigo



Tratamiento 2: Pan 40% quinua. 50%MALH



Tratamiento 3: Pan 40% quinua. 100%MALH



Tratamiento 4: Pan 40% quinua. 50%MABT



Tratamiento 5: Pan 40% quinua. 100%MABT



Tratamiento 6: Pan 40% quinua. 50%MARA



Tratamiento 7: Pan 40% quinua. 100%MARA

Figura 3-4. Aspecto de panes obtenidos en ensayo de panificación con masas ácidas de quinua a partir de diferentes cultivos iniciadores

Tabla 3-9. Análisis instrumental de textura de panes con masa ácida de quinua obtenida con diferentes cultivos iniciadores

Tratamiento	Dureza (gf)	Masticabilidad	Cohesividad
1	1449.77 ± 247.43 ^d	306.38 ± 23.81 ^{bc*}	0.344 ± 0.005 ^{bc*}
2	2509.06 ± 278.63 ^{bc*}	499.59 ± 68.27 ^{a*}	0.341 ± 0.011 ^{c*}
3	2668.85 ± 414.49 ^{bc*}	343.58 ± 54.40 ^{b*}	0.339 ± 0.031 ^{c*}
4	3780.98 ± 216.04 ^{a*}	521.06 ± 61.52 ^{a*}	0.373 ± 0.009 ^{b*}
5	2458.25 ± 270.51 ^{bc*}	246.51 ± 40.18 ^d	0.273 ± 0.027 ^{d*}
6	2399.18 ± 284.44 ^{c*}	279.18 ± 38.31 ^{cd*}	0.334 ± 0.020 ^{c*}
7	2794.36 ± 205.44 ^{b*}	336.11 ± 20.68 ^{bc*}	0.319 ± 0.009 ^{c*}
8	1336.21 ± 157.91 ^d	181.87 ± 32.74 ^e	0.423 ± 0.043 ^a
VC	469.82	79.455	0.0408

Las variables con la misma letra en el superíndice no muestran diferencias significativas entre sí ($n=5$, $\alpha=0,05$).

Los tratamientos marcados con asterisco (*) tienen diferencias significativas con el control (Tratamiento 8)

VC: valor crítico de comparación con el control (tratamiento 8) en el test de Dunnett de dos vías.

Tabla 3-10. Contrastes para variables del análisis instrumental de textura entre panes con masa ácida de quinua obtenida con diferentes cultivos iniciadores mediante el test de Scheffe .

Contraste	Dureza	Masticabilidad	Cohesividad
MALH Vs. MABT	2588.95 * 3116.61	421.58 NS 383.78	0.340 NS 0.323
MALH Vs. MARA	2588.95 NS 2596.77	421.58 ** 307.64	0.340 NS 0.326
MABT Vs. MARA	3116.61 * 2596.77	383.78 NS 307.64	0.323 NS 0.326
22% Vs. 39%	2896.40 NS 2640.48	526.34 ** 308.73	0.349 * 0.310
Sin masa ácida Vs. Con masa ácida	2122.06 ** 2768.45	244.12 ** 371.00	0.383 ** 0.329

Los contrastes señalados con * presentan diferencia significativa ($P<0,05$) y señalados con ** son altamente significativos ($P<0,01$). NS indica que no hay diferencias significativas.

En cuanto a la masticabilidad, todos los panes con sustitución de harina de trigo por harina de quinua, con o sin adición de masa ácida (tratamientos 1 a 7) presentaron mayores valores para este parámetro en comparación con el pan 100% trigo. Con

respecto al efecto de la adición de masa ácida, todos los panes con masa ácida tuvieron significativamente mayor masticabilidad aunque los mayores porcentajes de adición generaron panes con menor masticabilidad. La mayor masticabilidad se obtuvo en los panes con masa ácida obtenida con el cultivo iniciador LH100 y la menor en los panes con masa ácida obtenida con el cultivo RA22 siendo significativamente diferentes entre sí.

El pan 100% trigo mostró una mayor cohesividad que los demás tratamientos, con un efecto marcado de la adición de masa ácida. Todos los panes de masa ácida fueron menos cohesivos que los panes 100% trigo y 40% quinua sin masa ácida. En general un mayor porcentaje de adición de masa ácida generó panes menos cohesivos. Aunque en los contrastes no existió diferencia entre las masas ácidas, el pan con menor proporción de masa ácida obtenida con el cultivo BT02 (tratamiento 4) fue significativamente más cohesivo, mientras que el pan con mayor proporción de esta misma masa ácida (Tratamiento 5) fue significativamente menos cohesivo entre todos los tratamientos.

Resultados similares se han encontrado en panes libres de gluten con masa ácida. Moroni *et al.*, (2011) observaron un aumento significativo en la dureza y masticabilidad de panes de alforfón al aumentar la adición de masa ácida. La cohesividad disminuyó progresivamente a partir de inclusiones de masa ácida del 20% de la masa para panificación.

Volumen específico

La inclusión de masa ácida causó un descenso significativo en el volumen específico de los panes (Tabla 3-11 y Tabla 3-12). Este efecto fue dependiente del porcentaje de inclusión y del tipo de masa ácida usada. Los panes con mayor porcentaje de masa ácida tuvieron el menor volumen específico y la masa ácida obtenida con el cultivo BT02 generó panes con un volumen específico significativamente menor que las demás.

Los valores encontrados son similares a los reportados para panes de masa ácida de trigo con *lb. helveticus* y *lb. delbrueckii* como iniciadores, que mostraron volúmenes específicos entre 2 y 2.3 mL/g (Plessas *et al.*, 2008b). Este descenso del volumen específico puede deberse al aumento de la rigidez en las masas ácidas que afecta la capacidad de la estructura para retener el gas producido por la levadura. Se ha reportado que un aumento en la viscosidad de la fase líquida en masas para panificación con inclusión de masa ácida contribuye a una mayor estabilización de las celdas de gas (Rieder *et al.*, 2012); sin embargo, la única masa que presentó mejoras en el componente viscoso fue la obtenida con el cultivo BT02 y es con esta que se obtuvieron los menores volúmenes específicos.

Tabla 3-11. Volumen específico de panes con masa ácida de quinua obtenida con diferentes cultivos iniciadores

Tratamiento	Volumen específico mL/g	
1	3.39 ± 0.30 ^{b *}	
2	2.97 ± 0.51 ^{c *}	
3	2.26 ± 0.33 ^{d *}	
4	2.28 ± 0.28 ^{d *}	Las variables con la misma letra en el superíndice no muestran diferencias significativas entre sí (n=5, α=0,05).
5	1.80 ± 0.20 ^{e *}	
6	2.91 ± 0.08 ^{c *}	Los tratamientos marcados con asterisco (*) tienen diferencias significativas con el control (MQA).
7	2.40 ± 0.31 ^{d *}	
8	4.10 ± 0.29 ^a	VC: valor crítico de comparación con el control (MQA) en el test de Dunnett de dos vías.
VC	0.5436	

Tabla 3-12. Contrastes para volumen específico entre panes con masa ácida de quinua obtenida con diferentes cultivos iniciadores mediante el test de Scheffe .

Contraste	Volumen específico mL/g	
MALH Vs. MABT	2.61 2.04	*
MALH Vs. MARA	2.61 2.66	NS
MABT Vs. MARA	2.04 2.66	*
22% Vs. 39%	2.72 2.16	**
Sin masa ácida Vs. Con masa ácida	3.75 2.44	**

Los contrastes señalados con * presentan diferencia significativa (P<0,05) y señalados con ** son altamente significativos (P<0,01). NS indica que no hay diferencias significativas.

Este comportamiento puede explicarse por un efecto negativo de las interacciones entre microorganismos en el medio de la masa de panificación durante el leudado que pudieron afectar la producción de gas por la levadura. Al respecto se ha reportado que la adición de masa ácida indujo una dramática inhibición en la producción de CO₂ por parte de la levadura durante el leudado, resultando en menor volumen y miga más dura para panes con masa ácida (Moroni *et al.*, 2011).

Pérdida de humedad en la cocción

Una menor pérdida de humedad en la cocción es un indicativo de la retención de agua por parte de componentes que aporta la quinua a la formulación en los tratamientos 1 a 7 (Tabla 3-13 y Tabla 3-14), como son fibra y almidón con mayor capacidad de absorción de agua.

Los panes con inclusión de masa ácida presentaron una pérdida de humedad significativamente menor, aunque no dependiente del porcentaje de inclusión, que puede ser debida al efecto de la acidificación en las propiedades de hinchamiento del almidón o la presencia de polisacáridos generados en la fermentación acidoláctica que actúan como hidrocoloides.

La acidificación se usa en la producción de panes de trigo y centeno para cambiar el comportamiento reológico de la masa y consecuentemente la calidad del pan, incrementando su vida útil, aroma y la capacidad de ligar agua (Houben *et al.*, 2010). Se ha reportado que una mayor retención de humedad en el horneado mejora la textura de los panes (Plessas *et al.*, 2008).

Pese a lo anterior, en este estudio se observa que los panes con mayor retención de agua presentaron menor volumen específico y cohesividad y mayor dureza y masticabilidad, esto puede relacionarse con el cambio en las características reológicas de la masa inducido por los cultivos iniciadores empleados.

Tabla 3-13. Pérdida de humedad en la cocción de panes con masa ácida de quinua obtenida con diferentes cultivos iniciadores

Tratamiento	%Pérdida humedad	
1	11.28 ± 0.23 ^{b *}	
2	11.14 ± 0.51 ^{bc *}	
3	10.63 ± 0.51 ^{b *}	
4	11.34 ± 0.19 ^{b *}	Las variables con la misma letra en el superíndice no muestran diferencias significativas entre sí (n=5, α=0,05).
5	10.44 ± 0.04 ^{c *}	
6	10.96 ± 0.24 ^{bc *}	
7	11.40 ± 0.24 ^{b *}	Los tratamientos marcados con asterisco (*) tienen diferencias significativas con el control (MQA)
8	13.18 ± 0.38 ^a	VC: valor crítico de comparación con el control (MQA) en el test de Dunnett de dos vías.
VC	1.0883	

Tabla 3-14. Contrastes para pérdida de humedad en la cocción entre panes con masa ácida de quinua obtenida con diferentes cultivos iniciadores mediante el test de Scheffe .

Contraste		%Pérdida humedad	
MALH	Vs.	10.89	NS
MABT		10.89	
MALH	Vs.	10.89	NS
MARA		11.18	
MABT	Vs.	10.89	NS
MARA		11.18	
22%	Vs.	11.15	NS
39%		10.83	
Sin masa ácida	Vs.	11.69	**
Con masa ácida		10.99	

Los contrastes señalados con * presentan diferencia significativa ($P<0,05$) y señalados con ** son altamente significativos ($P<0,01$).

NS indica que no hay diferencias significativas.

Las variables anteriormente analizadas dan cuenta de la estructura resultante en el pan por efecto del uso de masa ácida. La estructura final de la miga del pan está estrechamente relacionada con el comportamiento reológico de la masa antes del horneado. Durante el amasado y el leudado, la masa debe mantener atrapadas las burbujas de gas producidas por la levadura e inhibir su migración y agregación. Durante el aumento de la temperatura en el horneado, los constituyentes de la masa, almidón, proteína y agua se convierten en la matriz de la miga y las burbujas de gas forman los poros. La masa debe ser elástica y altamente viscosa a la vez para dar espacio a las burbujas y mantenerlas confinadas (Houben *et al.*, 2010).

Como se vio en el capítulo 2, la sustitución de trigo por quinua afectó las características del pan debidas a su composición, como su textura y volumen, pues la estructura cambió por el aumento del contenido de fibra debido al aporte de la quinua y la disminución del contenido de gluten; se esperaba que la inclusión de masa ácida generara una mejora en estas propiedades al modificar la estructura de la masa de quinua por cuenta de los fenómenos de producción de exopolisacáridos y gelatinización del almidón que han sido bien documentados con efectos positivos en panes de masa ácida. Como se observó en los resultados obtenidos, las masas de quinua fermentadas tuvieron un comportamiento mecánico diferente del de la masa de quinua sin fermentar, siendo menos resistentes a la deformación, sin embargo, el uso de estas masas ácidas en la formulación con sustitución de trigo por quinua pudo generar efectos negativos por cuenta de la modificación del gluten debida a la acidificación.

La adición de ácidos orgánicos como láctico y acético a masas libres de gluten no ocasiona cambios significativos en las propiedades reológicas de las masas (Blanco *et*

al., 2011), pero en matrices con gluten pueden observarse algunos efectos. La acidificación en la masa ácida y la acidificación parcial de la masa para panificación impactan en los componentes que forman la estructura como el gluten, el almidón y otros carbohidratos. Evaluaciones reológicas fundamentales del efecto de la acidificación en masas de trigo ha indicado un aumento en la suavidad y elasticidad del gluten en presencia de ácido, llevando a masas con menores ángulos de fase, y por tanto comportamiento más elástico. Esto puede deberse a interacciones químicas del gluten que llevan al debilitamiento de la estructura. En medio ácido el aumento de la repulsión electrostática intramolecular lleva al desdoblamiento de la molécula de gluten, y aumenta la exposición de grupos hidrofóbicos; sin embargo, las mismas fuerzas repulsivas electrostáticas impiden la formación de nuevos enlaces, por tanto, debilitando la estructura (Arendt *et al.*, 2007)

Color

El color de la corteza de los panes se vio afectado por la sustitución de harina de trigo por harina de quinua así como por la inclusión de masa ácida (Tabla 3-15 y Tabla 3-16) Mayores valores para la coordenada b en los tratamientos 1 a 7 se explican por el efecto de la sustitución de harina de trigo por harina de quinua que es más amarilla, por tanto, aunque el contraste entre panes con masa ácida y sin masa ácida indica para esta coordenada un efecto significativo, se debe tener en cuenta que la prueba compara el promedio de los tratamientos 1 y 8 con el promedio para los tratamientos 2 a 6, como el pan 100% trigo es significativamente menos amarillo, al incluirse en esta comparación genera este resultado.

Tabla 3-15. Color de corteza de panes con masa ácida de quinua obtenida con diferentes cultivos iniciadores

Tratamiento	Luminosidad	b*(amarillo-azul)	a* (rojo-verde)
1	62.49 ± 3.35 ^{b*}	36.65 ± 1.61 ^{ab*}	1.65 ± 0.24 ^{d*}
2	56.53 ± 2.45 ^{de*}	36.09 ± 1.53 ^{bc*}	5.22 ± 0.75 ^{b*}
3	54.69 ± 1.12 ^{e*}	35.39 ± 0.62 ^{bc*}	5.71 ± 0.47 ^{b*}
4	58.56 ± 1.36 ^{cd*}	35.24 ± 1.30 ^{c*}	3.59 ± 0.67 ^{c*}
5	54.19 ± 1.29 ^{e*}	35.94 ± 0.30 ^{bc*}	6.54 ± 0.72 ^{a*}
6	59.56 ± 1.01 ^{c*}	37.57 ± 0.75 ^{a*}	5.05 ± 0.32 ^{b*}
7	54.79 ± 1.57 ^{e*}	35.98 ± 0.80 ^{bc*}	6.83 ± 0.43 ^{a*}
8	75.95 ± 1.69 ^a	28.68 ± 1.04 ^d	-3.19 ± 0.36 ^e
VC	3.2879	1.8941	0.924

Las variables con la misma letra en el superíndice no muestran diferencias significativas entre sí (n=5, α=0,05).

Los tratamientos marcados con asterisco (*) tienen diferencias significativas con el control (MQA)

VC: valor crítico de comparación con el control (MQA) en el test de Dunnett de dos vías.

Tabla 3-16. Contrastes para color de corteza entre panes con masa ácida de quinua obtenida con diferentes cultivos iniciadores mediante el test de Scheffe .

Contraste		Luminosidad		b*(amarillo-azul)		a* (rojo-verde)	
MALH	Vs.	55.61	NS	35.74	NS	5.46	NS
MABT		56.37		35.59		5.16	
MALH	Vs.	55.61	NS	35.74	NS	5.46	NS
MARA		57.18		36.78		5.94	
MABT	Vs.	56.37	NS	35.59	NS	5.16	NS
MARA		57.18		36.78		5.94	
22%	Vs.	58.22	**	36.30	NS	4.68	*
39%		54.56		35.77		6.36	
Sin masa ácida	Vs.	68.72	**	32.65	**	-0.07	**
Con masa ácida		56.39		36.04		5.52	

Los contrastes señalados con * presentan diferencia significativa ($P<0,05$) y señalados con ** son altamente significativos ($P<0,01$). NS indica que no hay diferencias significativas.

Los panes con masa ácida tuvieron una corteza más parda, lo que se reflejó en valores de luminosidad más cercanos a cero y mayores valores para la coordenada a, no hubo diferencia entre las masas ácidas usadas, pero el porcentaje de inclusión si afectó significativamente este parámetro, pues los panes con mayor inclusión de masa ácida presentaron los colores más oscuros.

Tabla 3-17. Color de miga de panes con masa ácida de quinua obtenida con diferentes cultivos iniciadores

Tratamiento	Luminosidad	b*(amarillo-azul)	a* (rojo-verde)
1	66.19 ± 2.09 ^{b *}	25.46 ± 0.60 ^{c *}	-2.19 ± 0.28 ^{d *}
2	58.51 ± 0.98 ^{cd}	26.23 ± 0.61 ^{bc *}	-0.28 ± 0.39 ^{b *}
3	55.99 ± 2.54 ^{de *}	26.89 ± 0.68 ^{ab *}	1.44 ± 0.39 ^{a *}
4	60.79 ± 1.35 ^{c *}	26.33 ± 0.54 ^{b *}	-0.77 ± 0.25 ^{c *}
5	55.39 ± 3.33 ^{e *}	27.15 ± 0.67 ^{a *}	1.83 ± 0.36 ^{a *}
6	60.97 ± 1.57 ^{c *}	26.42 ± 0.27 ^{ab *}	-0.67 ± 0.23 ^{bc *}
7	55.02 ± 1.15 ^{e *}	26.85 ± 0.27 ^{ab *}	1.90 ± 0.55 ^{a *}
8	71.94 ± 3.25 ^a	19.98 ± 0.92 ^d	-4.57 ± 0.38 ^e
VC	3.8588	1.0542	0.6378

Las variables con la misma letra en el superíndice no muestran diferencias significativas entre sí ($n=5$ $\alpha=0,05$).

Los tratamientos marcados con asterisco (*) tienen diferencias significativas con el control (MQA)

VC: valor crítico de comparación con el control (MQA) en el test de Dunnett de dos vías.

Tabla 3-18. Contrastes para color de miga entre panes con masa ácida de quinua obtenida con diferentes cultivos iniciadores mediante el test de Scheffe .

Contraste		Luminosidad		b*(amarillo-azul)		a* (rojo-verde)	
MALH	Vs.	57.25	NS	26.56	NS	0.58	NS
MABT		58.39		26.74		0.53	
MALH	Vs.	57.25	NS	26.56	NS	0.58	NS
MARA		57.98		26.63		0.61	
MABT	Vs.	58.39	NS	26.74	NS	0.53	NS
MARA		57.98		26.63		0.61	
22%	Vs.	60.09	**	26.33	NS	-0.58	**
39%		55.47		26.96		1.72	
Sin masa ácida	Vs.	69.06	**	22.72	**	-3.38	**
Con masa ácida		57.78		26.64		0.57	

Los contrastes señalados con * presentan diferencia significativa ($P<0,05$) y señalados con ** son altamente significativos ($P<0,01$). NS indica que no hay diferencias significativas.

Con respecto al color de la miga (Tabla 3-17 y Tabla 3-18), tanto la inclusión de quinua como el uso de masa ácida generaron diferencias entre los tratamientos, similar a lo ya expuesto para la coordenada b, valores mayores se explican porque la harina de quinua es naturalmente más amarilla que la harina de trigo. La miga fue menos parda que la corteza y esto se debe a que por definición la corteza se forma durante el horneado y en esta ocurre típicamente la reacción de Maillard. No se presentaron diferencias entre el tipo de masa ácida usada, pero mayores porcentajes de inclusión también generaron colores más pardos para la miga.

Fenoles totales

La sustitución de harina de trigo por harina de quinua generó un cambio importante en el contenido de fenoles totales, adicionalmente, el uso de masa ácida acentuó este efecto (Tabla 3-19 y Tabla 3-20), especialmente con respecto al nivel de adición. No se presentó diferencia entre masas ácidas y los panes con mayor inclusión de masa ácida presentaron el mayor contenido de compuestos fenólicos.

En general, la fermentación acidoláctica resulta en un aumento de la concentración de aminoácidos en la masa, mientras la fermentación de masa únicamente con levaduras reduce la concentración de aminoácidos libres. La proteólisis durante la fermentación acidoláctica genera aminoácidos disponibles para la formación de compuestos volátiles por parte de la levadura (Katina *et al.*, 2006).

Esta proteólisis acentuada contribuye a la acumulación de aminoácidos en las masas ácidas y se atribuye tanto a la actividad proteolítica de las bacterias acidolácticas en la

masa ácida como a la activación de proteólisis por enzimas presentes en los cereales dada por la acidificación del medio (Gobbetti *et al.*, 2005; Gänzle *et al.*, 2007). Además del impacto directo del descenso del pH en las características de la masa, los efectos secundarios de la acidificación incluyen cambios en la actividad de las enzimas amilolíticas y proteolíticas provenientes de los cereales o de las bacterias, lo cual afecta la red de almidón y aumenta el nivel de aminoácidos libres en la masa (Arendt *et al.*, 2007). Los aminoácidos libres y los carbohidratos solubles producto de la fermentación participan en reacciones de pardeamiento durante el horneado, contribuyendo a las características organolépticas del pan (Lefebvre *et al.*, 2002).

Tabla 3-19. Fenoles totales de panes con masa ácida de quinua obtenida con diferentes cultivos iniciadores

Tratamiento	GAE/g muestra	
1	6.15 ± 0.57 ^{d *}	
2	8.38 ± 0.46 ^{c *}	
3	14.98 ± 0.63 ^{a *}	
4	8.54 ± 0.52 ^{c *}	
5	12.67 ± 1.87 ^{b *}	Las variables con la misma letra en el superíndice no muestran diferencias significativas entre sí (n=5, α=0,05)
6	9.67 ± 0.05 ^{c *}	
7	13.21 ± 0.65 ^{b *}	Los tratamientos marcados con asterisco (*) tienen diferencias significativas con el control (Tratamiento 8)
8	1.87 ± 0.26 ^{e *}	VC: valor crítico de comparación con el control (MQA) en el test de Dunnett de dos vías.
VC	1.9277	

Tabla 3-20. Contrastes fenoles totales entre panes con masa ácida de quinua obtenida con diferentes cultivos iniciadores mediante el test de Scheffe .

Contraste		Fenoles totales (GAE/ g)	
MALH	Vs.	11.68	NS
MABT		10.60	
MALH	Vs.	11.68	NS
MARA		11.44	
MABT	Vs.	10.60	NS
MARA		11.44	
22%	Vs.	8.87	**
39%		13.62	
Sin masa ácida	Vs.	4.01	**
Con masa ácida		11.24	

Los contrastes señalados con * presentan diferencia significativa (P<0,05) y señalados con ** son altamente significativos (P<0,01).

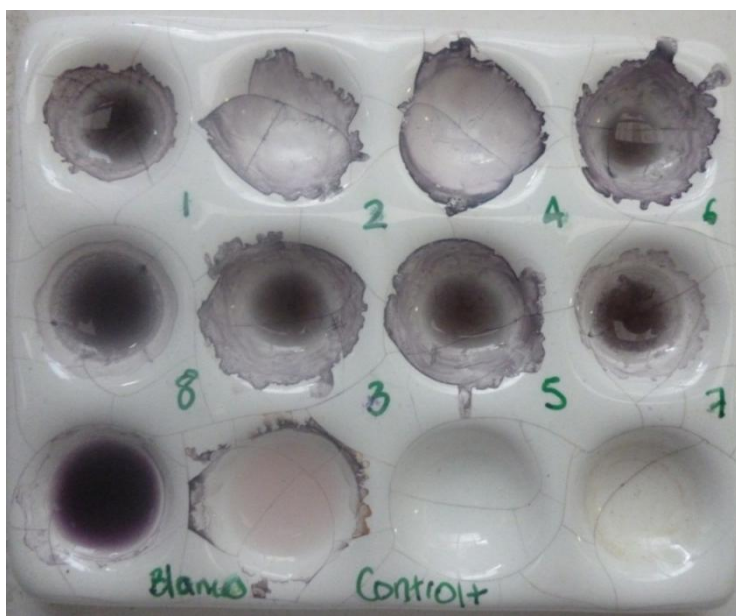
NS indica que no hay diferencias significativas.

De acuerdo a lo anterior, el posible aumento de aminoácidos libres en un medio con disponibilidad de carbohidratos solubles favoreció la generación de compuestos de color por la reacción de Maillard durante el horneado, resultando en panes con colores más oscuros como se puede ver en la figura 3-4. En general la adición de masa ácida genera panes con corteza frágil, miga más irregular y color más pardo, especialmente en los mayores porcentajes de adición, y un contenido mayor de fenoles totales que no se debió al aporte de la quinua como materia prima sino a la generación de compuestos tipo melaninas. Estos compuestos son estables, lo cual ocasiona que a pesar del alto contenido de compuestos fenólicos, los panes no presenten actividad antioxidante.

Capacidad antioxidante

Los panes elaborados en este estudio no presentaron capacidad antioxidante (Figura 3-5). Masas ácidas de matrices como centeno presentaron capacidad antioxidante, que aumentó si las condiciones de fermentación eran óptimas para el crecimiento de los iniciadores (Banu & Aprodu, 2012) y se ha reportado un aumento en la cantidad de compuestos fenólicos y de capacidad antioxidante en productos horneados con uso de pseudocerales y de masa ácida (Coda *et al.*, 2010; Chlopicka *et al.*, 2012). Los resultados obtenidos se explican porque es posible que durante el horneado las condiciones de alta temperatura estabilicen los compuestos que pueden conferir capacidad antioxidante.

Figura 3-5. Prueba de Takao para actividad antioxidante de panes con masa ácida de quinua.



*Esta prueba da positivo para actividad antioxidante si el extracto obtenido de la muestra decolora el reactivo DPPH.

Aceptación de consumidores

En general los panes obtenidos con masa ácida presentaron un aroma y sabor característico conferido por la acidificación de la masa. A partir de la sustitución de harina de trigo por harina de quinua decreció el puntaje asignado a la calidad total y por ende el porcentaje de aceptación del producto (Tabla 3-21); sin embargo esta diferencia no fue significativa pues el mayor decrecimiento en la aceptación se dio para los panes con masa ácida.

Las propiedades tecnológicas de las masas ácidas resultantes están influenciadas por el tipo de bacteria acidoláctica usada como cultivo iniciador, de igual manera, el sabor y aroma de los panes de masa ácida depende de los compuestos de sabor y aroma producidos por las bacterias o sus precursores (como aminoácidos libres) que son disponibilizados por el proceso metabólico de estas (Ravyts & De Vuyst, 2011).

El tipo de cultivo empleado afectó la aceptación, siendo más alta para los panes con las menores sustituciones de masa ácida obtenida con el cultivo LH100 y de masa ácida obtenida con el cultivo RA22. Los panes con estas masas ácidas fueron rechazados en los mayores porcentajes de inclusión, mientras que los panes con masa ácida obtenida con el cultivo BT02 presentaron baja aceptación tanto en su mayor como en su menor inclusión, relacionándose con lo observado en las determinaciones instrumentales de textura, color y volumen específico, donde estos panes presentaron los mayores cambios desfavorables.

Tabla 3-21. Evaluación sensorial de panes con masa ácida de quinua obtenida con diferentes cultivos iniciadores

Tratamiento	Media de puntaje obtenido	%Aceptación
1	4.24 ± 0.43 ^{AB}	84.71
2	3.56 ± 0.72 ^{BC}	71.18
3	1.65 ± 0.60 ^E	32.94
4	2.53 ± 0.75 ^{DE}	50.59
5	2.15 ± 0.82 ^E	42.94
6	3.12 ± 0.64 ^{CD}	62.35
7	1.94 ± 0.69 ^E	38.82
8	4.59 ± 0.50 ^A	91.76

Los tratamientos con la misma letra en el subíndice no presentan diferencias significativas entre sí (N=34, $\alpha=0.05$).

Análisis de composición proximal

Los panes obtenidos se diferencian por el contenido de humedad, guardando relación con la retención de agua en la cocción (Tabla 3-22), siendo mayor para los panes con masa ácida. Un mayor contenido de fibra cruda en los panes con masa ácida puede indicar un aumento en la fracción de almidón resistente por efecto de la fermentación (Poutanen *et al.*, 2009 ; Scazzina *et al.*, 2009).

Los contenidos netos de macro nutrientes en base seca cambiaron con respecto a los del pan 100% trigo debido a la composición de la harina de quinua. De manera general, hay una ligera disminución en el contenido de proteína, y aumentan los contenidos de grasa, fibra y cenizas, con un contenido similar de carbohidratos, obteniéndose para los panes con 40% quinua una composición semejante a la reportada en el capítulo 2. Los panes con masa ácida no presentaron cambios en su composición proximal, aunque de acuerdo a la literatura se pueden esperar mejoras en la disponibilidad de los nutrientes, sin embargo esta determinación requiere de estudios biológicos que no formaron parte del alcance de la presente investigación.

Tabla 3-22. Composición proximal de panes con masa ácida de quinua obtenida con diferentes cultivos iniciadores

Tratamiento	Humedad (g/100g)	Proteína *	Grasa *	Fibra *	Cenizas *	Carbohidratos *
1	38.16 ± 0.25 ^{cd}	11.30 ± 0.13 ^b	8.93 ± 0.10 ^a	0.74 ± 0.08 ^b	1.32 ± 0.02 ^a	75.55 ± 0.87 ^{ab}
2	38.20 ± 0.24 ^{cd}	11.40 ± 0.03 ^b	9.03 ± 0.05 ^a	0.75 ± 0.04 ^{ab}	1.33 ± 0.01 ^a	76.88 ± 0.45 ^{ab}
3	38.65 ± 0.17 ^{ab}	11.34 ± 0.20 ^b	9.02 ± 0.16 ^a	0.75 ± 0.01 ^{ab}	1.33 ± 0.02 ^a	76.16 ± 0.35 ^b
4	38.04 ± 0.10 ^d	11.40 ± 0.07 ^b	9.04 ± 0.05 ^a	0.75 ± 0.03 ^{ab}	1.33 ± 0.01 ^a	76.91 ± 0.44 ^{ab}
5	38.78 ± 0.27 ^a	11.42 ± 0.05 ^b	9.08 ± 0.06 ^a	0.76 ± 0.05 ^a	1.34 ± 0.01 ^a	76.70 ± 0.48 ^{ab}
6	38.17 ± 0.13 ^{cd}	11.35 ± 0.13 ^b	9.00 ± 0.10 ^a	0.75 ± 0.09 ^{ab}	1.33 ± 0.02 ^a	76.57 ± 0.89 ^{ab}
7	38.41 ± 0.18 ^{bc}	11.39 ± 0.15 ^b	9.06 ± 0.11 ^a	0.76 ± 0.09 ^a	1.34 ± 0.02 ^a	76.55 ± 0.94 ^{ab}
8	37.58 ± 0.09 ^e	12.70 ± 0.11 ^a	7.48 ± 0.09 ^b	0.36 ± 0.04 ^c	0.85 ± 0.01 ^b	77.71 ± 0.94 ^a

*g/100g en base seca

Las variables con la misma letra en el superíndice no muestran diferencias significativas entre sí (n=3, α=0.05)

3.4 CONCLUSIONES

La masa ácida es una tecnología empleada desde la antigüedad con alto potencial y vigencia en el mundo actual y que ha presentado efectos interesantes en la incorporación de nuevas matrices alimentarias en productos horneados.

En este estudio se encontró que durante el proceso de fermentación acidoláctica hay consumo de carbohidratos y producción de ácidos orgánicos dependiendo del cultivo iniciador empleado, lo cual afecta la velocidad de acidificación de las masas ácidas y sus características reológicas. En general las masas ácidas fueron menos resistentes a la deformación y más rígidas que la masa de quinua sin fermentar.

En este estudio el uso de masa ácida no permitió obtener mejoras en las propiedades de panes con sustitución de harina de trigo por harina de quinua, debido a la posible modificación de las estructuras del gluten y del almidón, así como de sus interacciones causadas por la acidificación y que generaron en los productos horneados menor volumen, textura más dura y masticable y menos cohesiva y colores más oscuros.

Este tipo de productos no desagrada en cuanto aroma y sabor al consumidor, en niveles bajos de adición de masa ácida, donde los efectos positivos que puede tener esta tecnología en cuanto a la disponibilidad de nutrientes pueden suponer el mayor potencial.

3.5 REFERENCIAS

- AACC (2000). Approved methods of American Association of Cereal Chemist St Paul: American Association of Cereal Chemist, Inc.
- Ainsworth E. A. & Gillespie K. M. (2007). "Estimation of total phenolic content and other oxidation substrates in plant tissues using Folin-Ciocalteu reagent." Natural Protocols **2**(4): 875-877.
- Alaunyte I., Stojceska V., Plunkett A., Ainsworth P. & Derbyshire E. (2012). "Improving the quality of nutrient-rich Teff (*Eragrostis tef*) breads by combination of enzymes in straight dough and sourdough breadmaking." Journal of Cereal Science **55**(1): 22-30.
- Angioloni A., Romani S., Pinnavaia G. & Rosa M. (2006). "Characteristics of bread making doughs: influence of sourdough fermentation on the fundamental rheological properties." European Food Research and Technology **222**(1): 54-57.

- Arendt E. K., Ryan L. A. M. & Dal Bello F. (2007). "Impact of sourdough on the texture of bread." Food Microbiology **24**(2): 165-174.
- Balestra F., Cocci E., Pinnavaia G. & Romani S. (2011). "Evaluation of antioxidant, rheological and sensorial properties of wheat flour dough and bread containing ginger powder." LWT - Food Science and Technology **44**(3): 700-705.
- Banu I. & Aprodu I. (2012). "Studies concerning the use of *Lactobacillus helveticus* and *Kluyveromyces marxianus* for rye sourdough fermentation." European Food Research and Technology **234**(5): 769-777.
- Bhargava A., Shukla S. & Ohri D. (2006). "Chenopodium quinoa--An Indian perspective." Industrial Crops and Products **23**(1): 73-87.
- Blanco C. A., Ronda F., Pérez B. & Pando V. (2011). "Improving gluten-free bread quality by enrichment with acidic food additives." Food Chemistry **127**(3): 1204-1209.
- Caplice E. & Fitzgerald G. F. (1999). "Food fermentations: role of microorganisms in food production and preservation." International Journal of Food Microbiology **50**(1-2): 131-149.
- Cardona Jaramillo J. E. C. (2011). Estudio de metabolitos fijos y volátiles en tres morfotipos de cocona (*Solanum sessiliflorum* Dunal) procedentes del departamento del Guaviare. Facultad de Ciencias. Departamento de Química. Bogotá, Universidad Nacional de Colombia. Master en Ciencias-Química.
- Cicco N., Lanorte M. T., Paraggio M., Viggiano M. & Lattanzio V. (2009). "A reproducible, rapid and inexpensive Folin-Ciocalteu micro-method in determining phenolics of plant methanol extracts." Microchemical Journal **91**(1): 107-110.
- Coda R., Rizzello C. G. & Gobbetti M. (2010). "Use of sourdough fermentation and pseudo-cereals and leguminous flours for the making of a functional bread enriched of [gamma]-aminobutyric acid (GABA)." International Journal of Food Microbiology **137**(2-3): 236-245.
- Correia I., Nunes A., Guedes S., Barros A. S. & Delgadillo I. (2010). "Screening of lactic acid bacteria potentially useful for sorghum fermentation." Journal of Cereal Science **52**(1): 9-15.
- Chinnici F., Spinabelli U. & Amati A. (2002). "Simultaneous determination of organic acids, sugars, and alcohols in musts and wines by an improved ion-exclusion HPLC method." Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies **25**(16): 2551 - 2560.

- Chitnis R., Abichandani M., Nigam P., Nahar L. & Sarker S. (2007). "Actividad antibacteriana y antioxidante de los extractos de *Piper cubea* (Piperaceae)." Ars Pharm **48**(4): 343-350.
- Chlopicka J., Pasko P., Gorinstein S., Jedryas A. & Zagrodzki P. (2012). "Total phenolic and total flavonoid content, antioxidant activity and sensory evaluation of pseudocereal breads." LWT - Food Science and Technology **46**: 548-555.
- Flander L., Suortti T., Katina K. & Poutanen K. (2011). "Effects of wheat sourdough process on the quality of mixed oat-wheat bread." LWT - Food Science and Technology **44**(3): 656-664.
- Galle S., Schwab C., Arendt E. K. & Gänzle M. G. (2011). "Structural and rheological characterisation of heteropolysaccharides produced by lactic acid bacteria in wheat and sorghum sourdough." Food Microbiology **28**(3): 547-553.
- Gänzle M. G., Vermeulen N. & Vogel R. F. (2007). "Carbohydrate, peptide and lipid metabolism of lactic acid bacteria in sourdough." Food Microbiology **24**(2): 128-138.
- Gobbetti M., De Angelis M., Corsetti A. & Di Cagno R. (2005). "Biochemistry and physiology of sourdough lactic acid bacteria." Trends in Food Science & Technology **16**(1-3): 57-69.
- Gobetti M., De Angelis M., Di Cagno R. & Rizzello C. G. (2008). Sourdough / lactic acid bacteria. Gluten-Free Cereal Products and Beverages. E. K. Arendt & F. Del Bello, Elsevier.
- Hernández M. S., Martínez O. & Fernández-Trujillo J. P. (2007). "Behavior of arazá (*Eugenia stipitata* Mc Vaugh) fruit quality traits during growth, development and ripening." Scientia Horticulturae **111**(3): 220-227.
- Houben A., Götz H., Mitzscherling M. & Becker T. (2010). "Modification of the rheological behavior of amaranth (*Amaranthus hypochondriacus*) dough." Journal of Cereal Science **51**(3): 350-356.
- ICONTEC (2007). Guía Técnica Colombiana. GTC 165. Análisis sensorial. Metodología. Guía general. Bogotá, D.C, Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación. I.C.C.: 67.140.20; 67.240.00.
- Katina K., Arendt E., Liukkonen K. H., Autio K., Flander L. & Poutanen K. (2005). "Potential of sourdough for healthier cereal products." Trends in Food Science & Technology **16**(1-3): 104-112.

- Katina K., Heiniö R. L., Autio K. & Poutanen K. (2006). "Optimization of sourdough process for improved sensory profile and texture of wheat bread." LWT - Food Science and Technology **39**(10): 1189-1202.
- Lefebvre D., Gabriel V., Vayssier Y. & Fontagné-Faucher C. (2002). "Simultaneous HPLC Determination of Sugars, Organic Acids and Ethanol in Sourdough Process." LWT - Food Science and Technology **35**(5): 407-414.
- Mariotti M., Lucisano M., Ambrogina Pagani M. & Ng P. K. W. (2009). "The role of corn starch, amaranth flour, pea isolate, and Psyllium flour on the rheological properties and the ultrastructure of gluten-free doughs." Food Research International **42**(8): 963-975.
- Meilgaard M., Civille G. V. & Carr B. T. (1999). Sensory Evaluation Techniques. Boca Ratón, Florida USA., CRC Press LLC.
- Minervini F., Pinto D., Di Cagno R., De Angelis M. & Gobbetti M. (2011). "Scouting the application of sourdough to frozen dough bread technology." Journal of Cereal Science **54**(3): 296-304.
- Miranda M., Vega-Gálvez A., López J., Parada G., Sanders M., Aranda M., Uribe E. & Di Scala K. (2010). "Impact of air-drying temperature on nutritional properties, total phenolic content and antioxidant capacity of quinoa seeds (*Chenopodium quinoa* Willd.)." Industrial Crops and Products **32**(3): 258-263.
- Miranda M., Vega-Gálvez A., Martínez E., López J., Rodríguez M. J., Henríquez K. & Fuentes F. (2012). "Genetic diversity and comparison of physicochemical and nutritional characteristics of six quinoa (*Chenopodium quinoa* willd.) genotypes cultivated in Chile." Food Science and Technology (Campinas) **32**: 835-843.
- Moroni A. V., Arendt E. K., Morrissey J. P. & Bello F. D. (2010). "Development of buckwheat and teff sourdoughs with the use of commercial starters." International Journal of Food Microbiology **142**(1-2): 142-148.
- Moroni A. V., Bello F. D., Zannini E. & Arendt E. K. (2011). "Impact of sourdough on buckwheat flour, batter and bread: Biochemical, rheological and textural insights." Journal of Cereal Science **54**(2): 195-202.
- Ogunbenle H. N. (2003.). "Nutritional evaluation and functional properties of quinoa (*Chenopodium quinoa*) flour." International Journal of Food Sciences and Nutrition **54**: 153-158.
- Plessas S., Bekatorou A., Gallanagh J., Nigam P., Koutinas A. A. & Psarianos C. (2008a). "Evolution of aroma volatiles during storage of sourdough breads made by mixed cultures of *Kluyveromyces marxianus* and *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* or *Lactobacillus helveticus*." Food Chemistry **107**(2): 883-889.

- Plessas S., Fisher A., Koureta K., Psarianos C., Nigam P. & Koutinas A. A. (2008b). "Application of *Kluyveromyces marxianus*, *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* and *L. helveticus* for sourdough bread making." Food Chemistry **106**(3): 985-990.
- Poutanen K., Flander L. & Katina K. (2009). "Sourdough and cereal fermentation in a nutritional perspective." Food Microbiology **26**(7): 693-699.
- Ravyts F. & De Vuyst L. (2011). "Prevalence and impact of single-strain starter cultures of lactic acid bacteria on metabolite formation in sourdough." Food Microbiology **28**(6): 1129-1139.
- Rieder A., Holtekjølén A. K., Sahlstrøm S. & Moldestad A. (2012). "Effect of barley and oat flour types and sourdoughs on dough rheology and bread quality of composite wheat bread." Journal of Cereal Science **55**(1): 44-52.
- Rocha J. M. & Malcata F. X. (2012). "Microbiological profile of maize and rye flours, and sourdough used for the manufacture of traditional Portuguese bread." Food Microbiology **31**(1): 72-88.
- Rühmkorf C., Jungkuntz S., Wagner M. & Vogel R. F. (2012). "Optimization of homoexopolysaccharide formation by lactobacilli in gluten-free sourdoughs." Food Microbiology **32**(2): 286-294.
- Scazzina F., Del Rio D., Pellegrini N. & Brighenti F. (2009). "Sourdough bread: Starch digestibility and postprandial glycemic response." Journal of Cereal Science **49**(3): 419-421.
- Schoenlechner R., Siebenhandl S. & Berghofer E. (2008). Pseudocereals. Gluten-Free Cereal Products and Beverages. K. A. Elke & B. Fabio Dal. San Diego, Academic Press: 149-190.
- Steffe J. F. (1996). Rheological methods in food process engineering, Freeman Press.
- Sterr Y., Weiss A. & Schmidt H. (2009). "Evaluation of lactic acid bacteria for sourdough fermentation of amaranth." International Journal of Food Microbiology **136**(1): 75-82.
- Tapia M. E., Morón C., Ayala G. & Fries A. M. (2000). Valor nutritivo y patrones de consumo. Cultivos andinos subexplotados y su aporte a la alimentación. M. E. Tapia. Santiago, Chile, FAO. Oficina Regional para América Latina y el Caribe.
- Taylor J. R. N. (2004). FERMENTATION | Foods and Nonalcoholic Beverages. Encyclopedia of Grain Science. W. Editor-in-Chief: Colin. Oxford, Elsevier: 380-390.

-
- Usenik V., Fabcic J. & Stampar F. (2008). "Sugars, organic acids, phenolic composition and antioxidant activity of sweet cherry (*Prunus avium* L.)." Food Chemistry **107**(1): 185-192.
- Vogelmann S. A., Seitter M., Singer U., Brandt M. J. & Hertel C. (2009). "Adaptability of lactic acid bacteria and yeasts to sourdoughs prepared from cereals, pseudocereals and cassava and use of competitive strains as starters." International Journal of Food Microbiology **130**(3): 205-212.
- Witczak M., Juszczak L., Ziobro R. & Korus J. (2012). "Influence of modified starches on properties of gluten-free dough and bread. Part I: Rheological and thermal properties of gluten-free dough." Food Hydrocolloids **28**(2): 353-360.
- Witczak M., Korus J., Ziobro R. & Juszczak L. (2010). "The effects of maltodextrins on gluten-free dough and quality of bread." Journal of Food Engineering **96**(2): 258-265.
- Yuan J.-P. & Chen F. (1998). "Degradation of Ascorbic Acid in Aqueous Solution." Journal of Agricultural and Food Chemistry **46**(12): 5078-5082.

4. Conclusiones y recomendaciones

4.1 Conclusiones

La sustitución de trigo por quinua afectó significativamente las propiedades mecánicas de masas para panificación. Las modificaciones en el volumen, color y textura del pan fueron influenciadas por la disminución de la cantidad de gluten que aportó la harina de trigo y las interacciones de los demás componentes en la masa, como la fibra y la grasa con el almidón, y fueron significativas desde la menor sustitución.

La variedad Facianar Aurora presentó mayor aptitud tecnológica para panificación, pues en comparación con las variedades Tunkahuan y Blanca de Jericó, con esta variedad se obtuvieron masas más estables y panes con mayor volumen, y menor dureza y masticabilidad. Panes elaborados con sustitución del 40% de harina de trigo por harina de quinua de esta variedad presentaron mejoras en el aporte de macro y micronutrientes, con menores cambios de volumen y textura.

El uso de masa ácida no permitió obtener mejoras en las propiedades de panes con sustitución de harina de trigo por harina de quinua, debido a la modificación del comportamiento reológico de las masas. Durante el proceso de fermentación acidoláctica de masas de quinua se presentó consumo de carbohidratos y producción de ácidos orgánicos dependiendo del cultivo iniciador empleado, generando una posible modificación de la estructura formada por la proteína y el almidón, por lo que los panes de masa ácida presentaron menor volumen, textura más dura y masticable y menos cohesiva y color más oscuro.

Con respecto a la aceptación, los panes con sustitución de quinua del 40% gustaron a los consumidores, tanto sin la inclusión de masa ácida, como con el uso de esta en las menores proporciones. El consumidor asocia una mayor dureza, color más oscuro y menor volumen con un carácter saludable, por lo que este tipo de productos tiene un nicho en el mercado de los alimentos funcionales.

4.2 Recomendaciones

Los resultados obtenidos plantean una excelente oportunidad para estudiar la composición de la microbiota endógena de la quinua, con el fin de establecer las posibles interacciones que se dan entre los microorganismos inoculados y los presentes en la quinua para desarrollar cultivos iniciadores con mejor aptitud para el proceso de fermentación acidoláctica de masas de quinua para obtener masas ácidas

De acuerdo a las características nutricionales de la quinua, y de los productos obtenidos, se recomienda la realización de estudios de intervención que permitan establecer el efecto del consumo de productos de panificación con inclusión de harina de quinua y de masa ácida de quinua en marcadores bioquímicos específicos, con el fin de impulsar la inclusión de estos productos en el mercado de alimentos funcionales.

La quinua también ha presentado efectos positivos en matrices libres de gluten. La tecnología de masa ácida puede aplicarse en estas matrices, con un gran potencial en la mejora de propiedades sensoriales y de composición nutricional.

.

**A. Anexo: Eigenvalores y
eigenvectores para el análisis de
componentes principales (PCA) de
variables mecánicas y de textura de
masas con diferentes porcentajes de
inclusión de quinua de las variedades
estudiadas**

Eigenvalues / Eigenvectors Based on Correlation Matrix**Cumulative**

	Eigenvalues	Percent of Variance	Percent of Variance
1	10.5386	52,7	52,7
2	2.26395	11,3	66,1
3	2.01894	10,1	74,1
4	1.59160	8,0	82,1
5	1.05066	5,3	87,3
6	1.03009	5,2	92,5
7	0.50887	2,5	95,0
8	0.40968	2,0	97,1
9	0.27360	1,4	98,4
10	0.12475	0,6	99,1
11	0.07145	0,4	99,4
12	0.03524	0,2	99,6
13	0.02725	0,1	99,7
14	0.02217	0,1	99,8
15	0.01541	0,1	99,9
16	0.00815	0,0	100,0
17	0.00648	0,0	100,0
18	0.00218	0,0	100,0
19	9.179E-04	0,0	100,0
20	3.161E-05	0,0	100,0

	Vectors						
Factor	1	2	3	4	5	6	7
AA	0,2460	0,1389	-0,0109	0,1866	-0,2268	0,3891	0,2087
AD	-0,1107	0,3907	-0,3200	-0,4101	-0,0136	-0,1135	-0,0987
A~01	-0,0997	-0,3507	-0,2710	-0,0209	0,4894	0,3973	0,2199
B	-0,2916	-0,0722	0,0892	-0,0696	0,0705	0,0551	0,1814
C1	-0,0568	-0,1258	-0,5762	0,0940	-0,3336	0,0389	0,2528
C2	-0,2910	0,0216	0,0662	0,0346	-0,2315	0,0166	-0,1502
C3	-0,2776	-0,0292	0,0548	-0,1019	0,3309	-0,1674	0,0530
C4	-0,2744	0,1776	-0,0265	0,1117	0,2684	-0,1400	0,1224
C4C3	-0,2280	0,3155	-0,0883	0,2773	0,1576	-0,1079	0,1433
C5	-0,2835	0,1684	-0,0592	0,1624	0,1049	-0,1064	0,1210
C5C4	-0,2033	-0,0339	-0,0981	0,1264	-0,4559	-0,1043	0,3405
CH	-0,2765	-0,2104	0,1386	0,1258	-0,0760	0,0452	0,0002
DZ	0,2914	0,0566	-0,0709	-0,0176	0,0779	-0,2496	0,0458
EL	-0,2438	-0,2970	0,1458	0,2372	-0,0787	0,0290	0,0948
FR	0,1916	0,1952	0,2060	0,2161	0,0443	-0,4261	0,4409
G	-0,0151	0,2963	-0,0468	0,6300	0,0575	0,2179	-0,4273
GM	0,1641	-0,4117	0,2318	0,1614	-0,0069	-0,3115	-0,0416
RS	-0,2566	-0,0881	-0,1148	-0,1479	-0,2337	-0,2495	-0,2424
T1	-0,2528	0,0455	0,3228	-0,0959	-0,1575	0,0758	-0,2089
T2	-0,0629	0,2851	0,4403	-0,2577	-0,1051	0,3638	0,3432

Factor	Vectors						
	8	9	10	11	12	13	14
AA	-0,1498	-0,0537	0,3118	-0,1357	0,3201	0,0529	0,0875
AD	0,1180	0,0088	0,0986	-0,4928	0,4474	-0,0308	0,1401
A~01	0,2069	-0,0184	0,0861	-0,3045	-0,2258	0,0780	0,1723
B	-0,0480	-0,2213	0,1810	0,3300	0,3451	0,6686	-0,1146
C1	-0,3877	-0,0270	-0,5012	-0,0894	-0,0183	0,1275	-0,1663
C2	0,0074	-0,1793	-0,2150	0,0402	-0,1881	0,0969	0,6225
C3	0,0860	0,0381	-0,2653	-0,1061	0,0746	-0,0265	-0,3347
C4	-0,0668	0,1608	-0,0803	0,0473	0,0141	-0,0629	0,0100
C4C3	-0,1952	0,2389	0,0824	0,1637	-0,0250	-0,0351	0,4255
C5	-0,1028	0,0744	0,0725	0,0665	0,0963	-0,0686	-0,1005
C5C4	0,7183	0,2381	0,0835	0,0669	-0,0392	-0,0108	-0,0746
CH	-0,1317	-0,0444	0,2417	-0,2466	0,0236	0,0314	-0,0066
DZ	-0,0340	0,1639	-0,0069	0,2292	0,1301	0,0406	-0,0625
EL	-0,1594	-0,1065	0,0801	-0,0348	0,3431	-0,5871	-0,0801
FR	-0,0046	-0,4932	0,0287	-0,3721	-0,2285	0,0887	-0,0170
G	0,1444	0,0772	-0,0622	-0,2089	-0,0355	0,2120	-0,2846
GM	-0,0597	0,4827	-0,1382	-0,3383	0,2620	0,3023	0,2276
RS	-0,2790	0,1229	0,4869	-0,1600	-0,3971	0,1089	-0,2089
T1	0,0862	-0,2412	-0,3428	-0,1351	0,1237	0,0488	-0,0364
T2	-0,1951	0,4155	-0,1274	-0,1529	-0,2099	0,0302	-0,1319

Factor	Vectors					
	15	16	17	18	19	20
AA	0,2767	-0,5064	-0,2038	-0,0423	-0,0927	-0,0025
AD	-0,1400	0,1786	-0,0073	0,0344	-0,0382	-0,0099
A~01	0,1982	0,1715	-0,1985	-0,0031	0,0964	-0,0041
B	-0,0878	0,2181	-0,0174	-0,0528	-0,1593	-0,0101
C1	0,0091	0,0495	0,0611	0,0510	0,0053	-0,0001
C2	-0,2713	-0,1435	-0,4662	0,0256	-0,0887	-0,0203
C3	-0,0198	-0,5067	-0,1902	0,0891	-0,2819	0,4230
C4	0,1298	-0,1889	0,0356	0,0836	-0,1804	-0,7980
C4C3	0,3021	0,1413	0,2793	0,1117	-0,1166	0,4240
C5	-0,1362	-0,1117	-0,2000	-0,4390	0,7132	0,0464
C5C4	0,0613	-0,0070	0,0073	0,0405	-0,0210	0,0041
CH	-0,2600	-0,1718	0,2800	0,6453	0,3230	-0,0058
DZ	0,1611	0,1863	-0,5821	0,5390	0,2072	0,0036
EL	-0,0434	0,3567	-0,2232	-0,0580	-0,2513	0,0115
FR	-0,0103	0,1070	-0,0333	-0,0305	-0,0407	0,0006
G	-0,1264	0,1853	-0,1195	0,0398	-0,1080	0,0117
GM	0,0194	-0,0031	0,0172	-0,2046	0,0027	-0,0248
RS	0,2661	0,0137	-0,2099	-0,1063	-0,1433	0,0031
T1	0,6680	0,0910	0,0367	0,0499	0,2594	-0,0214
T2	-0,1533	0,2026	-0,1181	0,0265	-0,0326	0,0159

B. Anexo: Fichas técnicas de los cultivos acidolácticos comerciales utilizados como iniciadores para la elaboración de masas ácidas de quinua

Danisco Cultures
cultures@danisco.com
www.danisco.com

Page 1 / 2

DANISCO

First you add knowledge...

PRODUCT DESCRIPTION - PD 207076-2.0EN

Material no. 50484

CHOOZIT™ LH 100 LYO 10 DCU CHOOZIT™ Cheese Cultures

Description

Freeze-dried concentrated lactic starter for the direct vat inoculation of milk and milk bases.

Usage levels

Product	Dose
semi-hard cheese	0.1 - 0.3 DCU / 100 l of vat milk
Cooked cheese	0.1 - 0.5 DCU / 100 l of vat milk

The quantities of inoculation indicated should be considered as guidelines. Supplement cultures may be required depending on technology, fat content and product properties desired. We do not accept any liability in case of undue application.

Directions for use

Store at temperature < 4 °C in dry atmosphere. When stored at negative temperature, keep the sachet at room temperature for 30 to 60 minutes before opening. If not, the performance of the culture is affected. Prolonged exposure at room temperature will reduce performances. Check before use that the culture is in powder form. Add directly to the manufacturing milk as soon as the agitation blades of the vat are covered with milk. Avoid foam and air introduction in the milk.

Important recommendations:

If the product has formed a solid mass, it should be discarded. To keep bacteriophage contamination under control, ensure plant and equipments are cleaned and disinfected with appropriate products at regular intervals to limit bacteriophage concentration level. Avoid any system that brings back part of end products to the beginning of the processing line in order to limit phage propagation. We do not accept any liability in case of undue application.

Composition

Lactobacillus delbrueckii subsp. *lactis*
Lactobacillus helveticus

Properties

- Thermophilic culture for cheese making.
- Good control of the population for direct vat inoculation.
- Equal population of LH.

Microbiological specifications

1 DCU of culture represents a population of at least 1.10E10 cells. This culture is lysozyme resistant.

Coliforms	< 10 / g [1]
Enterococci	< 20 / g [2]
Yeasts	< 10 / g [3]
Moulds	< 10 / g [3]
Staphylococci coagulase positive	< 10 / g [4]
<i>Listeria monocytogenes</i>	neg. / 25 g [5]
<i>Salmonella</i>	neg. / 25 g [6]

[1] NF V08-015, IDF 73A-1985

[2] Gelose bile esculine sodium azide / 48 h at 37 °C

[3] NF V08-022, IDF 94B-1991

[4] NF V08-057, IDF 145A-1997

[5] NF V08-055, IDF 143A-1990

[6] NF V08-052, IDF 93B-1995

Storage

18 months from date of production at <= 4 °C

Packaging

Sachets made with three layers of material (polyethylene, aluminium, polyester). The following information is printed on each sachet: product name, pack size, batch n° and shelf life.

Quantity

Shipment cartons each containing 50 sachets

The information contained in this publication is based on our own research and development work and is to the best of our knowledge reliable. Users should, however, conduct their own tests to determine the suitability of our products for their own specific purposes and the legal status for their intended use of the product. Statements contained herein should not be considered as a warranty of any kind, expressed or implied, and no liability is accepted for the infringement of any patents.

Danisco Cultures
cultures@danisco.com
www.danisco.com

Page 2 / 2



PRODUCT DESCRIPTION - PD 207076-2.0EN

Material no. 50484

CHOOZIT™ LH 100 LYO 10 DCU CHOOZIT™ Cheese Cultures

Purity and legal status

CHOOZIT™ LH 100 LYO 10 DCU meets the specification laid down by the EU legislation.
Label food regulations should always be consulted concerning the status of this product, as legislation regarding its use in food may vary from country to country.

Safety and handling

MSDS is available on request.

Kosher status

KOSHER O-U-D

Halal status

AHA certified

Allergens

Below table indicates the presence of the following allergens and products thereof:

Yes	No	Allergens	Description of components
	X	cereals containing gluten	
	X	crustacean shellfish	
	X	eggs	
	X	fish	
	X	peanuts	
	X	soybeans	
	X	milk (including lactose)	used as fermentation nutrient*
	X	nuts	
	X	celery	
	X	mustard	
	X	sesame seeds	
	X	sulphur dioxide and sulphites (> 10 mg/kg)	

* used as fermentation nutrient and consumed by the microorganisms during the production process. Danisco Cultures has determined that fermentation nutrients are outside the scope of US and EU food allergen labelling requirements.

The information contained in this publication is based on our own research and development work and is to the best of our knowledge reliable. Users should, however, conduct their own tests to determine the suitability of our products for their own specific purposes and the legal status for their intended use of the product. Statements contained herein should not be considered as a warranty of any kind, expressed or implied, and no liability is accepted for the infringement of any patents.

Additional information

ISO 9001 certified

GMO status

CHOOZIT™ LH 100 LYO 10 DCU does not consist of, nor contains, nor is produced from genetically modified organisms according to the definitions of Regulation (EC) 1829/2003 and Regulation (EC) 1830/2003 of the European Parliament and of the Council of 22 September 2003.
For the raw materials having the potential of being produced from genetically modified organisms, we have obtained written information from our suppliers stating that the raw materials are not produced from genetically modified organisms according to the definitions of the above mentioned EC Regulations.

CULTURES DIVISION
cultures@danisco.com
www.danisco.com

Page 1 / 3



First you add knowledge...

PRODUCT DESCRIPTION - PD 206648-6.0EN

Material no. 50381

CHOOZIT™ RA 22 LYO 125 DCU

CHOOZIT™ Cheese Cultures

Description

Freeze-dried concentrated lactic starter for the direct vat inoculation of milk and milk bases.

Usage levels

Product	Dose
---------	------

Cheddar	6.25 - 7.5 DCU / 100 l of vat milk
semi-hard cheese	5 - 6.25 DCU / 100 l of vat milk

The quantities of inoculation indicated should be considered as guidelines. Supplement cultures may be required depending on technology, fat content and product properties desired.
We do not accept any liability in case of undue application.

Directions for use

Store at temperature < 4 °C in dry atmosphere. When stored at negative temperature, keep the sachet at room temperature for 30 to 60 minutes before opening. If not, the performance of the culture is affected. Prolonged exposure at room temperature will reduce performances. Check before use that the culture is in powder form. Add directly to the manufacturing milk as soon as the agitation blades of the vat are covered with milk. Avoid foam and air introduction in the milk.

Important recommendations:

If the product has formed a solid mass, it should be discarded. To keep bacteriophage contamination under control, ensure plant and equipments are cleaned and disinfected with appropriate products at regular intervals to limit bacteriophage concentration level. Avoid any system that brings back part of end products to the beginning of the processing line in order to limit phage propagation.

We do not accept any liability in case of undue application.

Composition

Lactococcus lactis subsp. lactis
Lactococcus lactis subsp. cremoris
Streptococcus salivarius subsp. thermophilus
Carrier:
Sucrose
Maltodextrins

Properties

-Direct vat inoculation, standardized activity
-Fast acidification.
-High phage resistance.

A phage alternative is available on request.

Physical/chemical specifications

Quantitative/Activity standard

Test medium:

Sterilised reconstituted milk (10% solids)

Heated 20 min at 110 °C. Standardised to pH 6.60

Temperature:

Cheddar Cycle

Inoculation rate:

7.5 DCU / 100 l

Delta pH:

0.9

Time to reach the delta pH:

<= 4.5 hours

The information contained in this publication is based on our own research and development work and is to the best of our knowledge reliable. Users should, however, conduct their own tests to determine the suitability of our products for their own specific purposes and the legal status for their intended use of the product. Statements contained herein should not be considered as a warranty of any kind, expressed or implied, and no liability is accepted for the infringement of any patents.

CULTURES DIVISION
cultures@danisco.com
www.danisco.com

Page 2 / 3



PRODUCT DESCRIPTION - PD 206648-6.0EN

Material no. 50381

CHOOZIT™ RA 22 LYO 125 DCU CHOOZIT™ Cheese Cultures

Microbiological specifications

Microbiological quality control - standard values and methods

Coliforms	< 10 / g [1]
Enterococci	< 20 / g [2]
Yeasts	< 10 / g [3]
Moulds	< 10 / g [3]
Staphylococci coagulase positive	< 10 / g [4]
Listeria monocytogenes	neg. / 25 g [5]
Salmonella	neg. / 25 g [6]

[1] NF V08-015, IDF 73A-1985

[2] Gelose bile esculine sodium azide / 48 h at 37 °C

[3] NF V08-022, IDF 94B-1991

[4] NF V08-057, IDF 145A-1997

[5] NF V08-055, IDF 143A-1990

[6] NF V08-052, IDF 93B-1995

Storage

18 months from date of production at ≤ 4 °C

Packaging

Sachets made with three layers of material (polyethylene, aluminium, polyester). The following information is printed on each sachet: product name, pack size, batch n° and shelf life.

Quantity

Shipment cartons each containing 50 sachets

Purity and legal status

CHOOZIT™ RA 22 LYO 125 DCU meets the specification laid down by the EU legislation.

Label food regulations should always be consulted concerning the status of this product, as legislation regarding its use in food may vary from country to country.

Safety and handling

MSDS is available on request.

Kosher status

KOSHER O-U-D

Halal status

AHA certified

Allergens

Below table indicates the presence of the following allergens and products thereof:

Yes	No	Allergens	Description of components
	X	wheat	
	X	other cereals containing gluten	
	X	crustacean shellfish	
	X	eggs	
	X	fish	
	X	peanuts	
	X	soybeans	
	X	milk (including lactose)	used as fermentation nutrient*
	X	nuts	
	X	celery	
	X	mustard	
	X	sesame seeds	
	X	sulphur dioxide and sulphites (> 10 mg/kg)	
	X	lupin	
	X	molluscs	

* used as fermentation nutrient. Danisco has determined that fermentation nutrients are outside the scope of US and EU food allergen labelling requirements. Local regulation has always to be consulted as allergen labelling requirements may vary from country to country.

Additional information

ISO 9001 certified
ISO 22000 certified

The information contained in this publication is based on our own research and development work and is to the best of our knowledge reliable. Users should, however, conduct their own tests to determine the suitability of our products for their own specific purposes and the legal status for their intended use of the product. Statements contained herein should not be considered as a warranty of any kind, expressed or implied, and no liability is accepted for the infringement of any patents.

Danisco Cultures
cultures@danisco.com
www.danisco.com

Page 2 / 2



First you add knowledge...

PRODUCT DESCRIPTION - PD 205492-3.12EN

Material no. 50396

CHOOZIT™ BT 02 LYO 50 DCU CHOOZIT™ Cheese Cultures

Packaging

Sachets made with three layers of material (polyethylene, aluminium, polyester). The following information is printed on each sachet: product name, pack size, batch n° and shelf life.

Quantity

Shipment cartons each containing 50 sachets

Purity and legal status

CHOOZIT™ BT 02 LYO 50 DCU meets the specification laid down by the EU legislation.

Label food regulations should always be consulted concerning the status of this product, as legislation regarding its use in food may vary from country to country.

Safety and handling

MSDS is available on request.

Kosher status

KOSHER O-U-D

Additional information

ISO 9001 certified

The information contained in this publication is based on our own research and development work and is to the best of our knowledge reliable. Users should, however, conduct their own tests to determine the suitability of our products for their own specific purposes and the legal status for their intended use of the product. Statements contained herein should not be considered as a warranty of any kind, expressed or implied, and no liability is accepted for the infringement of any patents.

Danisco Cultures
cultures@danisco.com
www.danisco.com

Page 1 / 2



First you add knowledge...

PRODUCT DESCRIPTION - PD 205492-3.12EN

Material no. 50396

CHOOZIT™ BT 02 LYO 50 DCU CHOOZIT™ Cheese Cultures

Description

Freeze-dried concentrated lactic starter for the direct vat inoculation of milk and milk bases.

Usage levels

Product	Dose
semi-hard cheese	6.25 DCU / 100 l of vat milk
soft cheese	6.25 DCU / 100 l of vat milk
fresh cheese	3.75 - 6.25 DCU / 100 l of vat milk

The quantities of inoculation indicated should be considered as guidelines. Supplement cultures may be required depending on technology, fat content and product properties desired. We do not accept any liability in case of undue application.

Directions for use

Store at temperature < 4 °C in dry atmosphere. When stored at negative temperature, keep the sachet at room temperature for 30 to 60 minutes before opening. If not, the performance of the culture is affected. Prolonged exposure at room temperature will reduce performances. Check before use that the culture is in powder form. Add directly to the manufacturing milk as soon as the agitation blades of the vat are covered with milk. Avoid foam and air introduction in the milk.

Important recommendations:

If the product has formed a solid mass, it should be discarded. To keep bacteriophage contamination under control, ensure plant and equipments are cleaned and disinfected with appropriate products at regular intervals to limit bacteriophage concentration level. Avoid any system that brings back part of end products to the beginning of the processing line in order to limit phage propagation.

We do not accept any liability in case of undue application.

Composition

Lactococcus lactis subsp. lactis
Lactococcus lactis subsp. cremoris
Lactococcus lactis subsp. lactis biovar. diacetylactis

Properties

- Direct vat inoculation
- A phage alternative is available on request
- Equal balance of strains

Physical/chemical specifications

Quantitative/Activity standard

Test medium:
Sterilised reconstituted milk (10% solids)
Heated 20 min at 110 °C. Standardised to pH 6.60

Temperature: 30 °C
Inoculation rate: 6.25 DCU / 100 l
Delta pH: 0.6
Time to reach the delta pH: <= 6 hours

Microbiological specifications

Microbiological quality control - standard values and methods

Coliforms	< 10 / g [1]
Enterococci	< 20 / g [2]
Yeasts	< 10 / g [3]
Moulds	< 10 / g [3]
Staphylococci coagulase positive	< 10 / g [4]
Listeria monocytogenes	neg. / 25 g [5]
Salmonella	neg. / 25 g [6]

[1] NF V08-015, IDF 73A-1985

[2] Gelose bile esculine sodium azide / 48 h at 37 °C

[3] NF V08-022, IDF 94B-1991

[4] NF V08-057, IDF 145A-1997

[5] NF V08-055, IDF 143A-1990

[6] NF V08-052, IDF 93B-1995

Storage

18 months from date of production at <= 4 °C

The information contained in this publication is based on our own research and development work and is to the best of our knowledge reliable. Users should, however, conduct their own tests to determine the suitability of our products for their own specific purposes and the legal status for their intended use of the product. Statements contained herein should not be considered as a warranty of any kind, expressed or implied, and no liability is accepted for the infringement of any patents.

Danisco Cultures
cultures@danisco.com
www.danisco.com

Page 2 / 2



First you add knowledge...

PRODUCT DESCRIPTION - PD 205492-3.12EN

Material no. 50396

CHOOZIT™ BT 02 LYO 50 DCU CHOOZIT™ Cheese Cultures

Packaging

Sachets made with three layers of material (polyethylene, aluminium, polyester). The following information is printed on each sachet: product name, pack size, batch n° and shelf life.

Quantity

Shipment cartons each containing 50 sachets

Purity and legal status

CHOOZIT™ BT 02 LYO 50 DCU meets the specification laid down by the EU legislation.

Label food regulations should always be consulted concerning the status of this product, as legislation regarding its use in food may vary from country to country.

Safety and handling

MSDS is available on request.

Kosher status

KOSHER O-U-D

Additional information

ISO 9001 certified

The information contained in this publication is based on our own research and development work and is to the best of our knowledge reliable. Users should, however, conduct their own tests to determine the suitability of our products for their own specific purposes and the legal status for their intended use of the product. Statements contained herein should not be considered as a warranty of any kind, expressed or implied, and no liability is accepted for the infringement of any patents.

Bibliografía

- Alvarez-Jubete L., Arendt E. K. & Gallagher E. (2010a). "Nutritive value of pseudocereals and their increasing use as functional gluten-free ingredients." Trends in Food Science & Technology **21**(2): 106-113.
- Alvarez-Jubete L., Wijngaard H., Arendt E. K. & Gallagher E. (2010b). "Polyphenol composition and in vitro antioxidant activity of amaranth, quinoa buckwheat and wheat as affected by sprouting and baking." Food Chemistry **119**(2): 770-778.
- Arendt E. K., Morrissey A., Moore M. M. & Dal Bello F. (2008). Gluten-Free breads. Gluten-Free Cereal Products and Beverages. E. Arendt & F. Dal Bello, Elsevier. **289-319**.
- Bhargava A., Shukla S. & Ohri D. (2006). "Chenopodium quinoa--An Indian perspective." Industrial Crops and Products **23**(1): 73-87.
- Brady K., Ho C.-T., Rosen R. T., Sang S. & Karwe M. V. (2007). "Effects of processing on the nutraceutical profile of quinoa." Food Chemistry **100**(3): 1209-1216.
- Coda R., Rizzello C. G. & Gobbetti M. (2010). "Use of sourdough fermentation and pseudo-cereals and leguminous flours for the making of a functional bread enriched of [gamma]-aminobutyric acid (GABA)." International Journal of Food Microbiology **137**(2-3): 236-245.
- Delgado A. I., Palacios J. H. & Betancourt G. C. (2009). "Evaluación de 16 genotipos de quinua dulce (Chenopodium quinoa Willd) en el municipio de Iles, Nariño (Colombia)." Agronomía Colombiana **27**(2): 159-167.
- Dobraszczyk B. J. & Morgenstern M. P. (2003). "Rheology and the breadmaking process." Journal of Cereal Science **38**(3): 229-245.
- FAO (2006). Informe de políticas. Seguridad alimentaria., FAO. Programa de seguridad alimentaria.
- Gobetti M., De Angelis M., Di Cagno R. & Rizzello C. G. (2008). Sourdough / lactic acid bacteria. Gluten-Free Cereal Products and Beverages. E. K. Arendt & F. Del Bello, Elsevier.

- Hüttner E. K. & Arendt E. K. (2010). "Recent advances in gluten-free baking and the current status of oats." Trends in Food Science & Technology **21**(6): 303-312.
- Jacobsen E. E. & Sherwood S. (2002). Cultivo de granos andinos en Ecuador, FAO, CIP & CRS.
- Jacobsen S., Mujica A. & Ortiz R. (2003). "La Importancia de los cultivos andinos." Fermentum **13**(36): 14-24.
- Kaur S., Singh N. & Rana J. C. (2010). "*Amarantus hypochondriacus* and *Amaranthus caudatus* germplasm: Characteristics of plants, grains and flours." Food Chemistry **123**: 1227-1234.
- Kopeć A., Pysz M., Borczak B., Sikora E., Rosell C. M., Collar C. & Sikora M. (2011). "Effects of sourdough and dietary fibers on the nutritional quality of breads produced by bake-off technology." Journal of Cereal Science **54**(3): 499-505.
- Lamacchia C., Chillo S., Lamparelli S., Suriano N., La Notte E. & Del Nobile M. A. (2010). "Amaranth, quinoa and oat doughs: Mechanical and rheological behaviour, polymeric protein size distribution and extractability." Journal of Food Engineering **96**(1): 97-106.
- Man S., Gao W., Zhang Y., Huang L. & Liu C. (2010). "Chemical study and medical application of saponins as anti-cancer agents." Fitoterapia **81**(7): 703-714.
- Moroni A. V., Bello F. D., Zannini E. & Arendt E. K. (2011). "Impact of sourdough on buckwheat flour, batter and bread: Biochemical, rheological and textural insights." Journal of Cereal Science **54**(2): 195-202.
- Mujica S. A., Jacobsen S. E., Izquierdo J. & Marathe J. P., Eds. (2001). Quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd) Ancestral cultivo andino, alimento del presente y futuro. Santiago, Chile, FAO.
- Onyango C., Mutungi C., Unbehend G. & Lindhauer M. G. (2011a). "Modification of gluten-free sorghum batter and bread using maize, potato, cassava or rice starch." LWT - Food Science and Technology **44**(3): 681-686.
- Onyango C., Mutungi C., Unbehend G. & Lindhauer M. G. (2011b). "Rheological and textural properties of sorghum-based formulations modified with variable amounts of native or pregelatinised cassava starch." LWT - Food Science and Technology **44**(3): 687-693.
- Peressini D., Pin M. & Sensidoni A. (2011). "Rheology and breadmaking performance of rice-buckwheat batters supplemented with hydrocolloids." Food Hydrocolloids **25**(3): 340-349.

- Poutanen K., Flander L. & Katina K. (2009). "Sourdough and cereal fermentation in a nutritional perspective." Food Microbiology **26**(7): 693-699.
- Repo-Carrasco R. & Encina Zelada C. R. (2008). "Determinación de la capacidad antioxidante y compuestos fenólicos de cereales andinos: Quinoa (*Chenopodium quinoa*), Kañiwa (*Chenopodium pallidicaule*) y Kiwicha (*Amaranthus caudatus*)." Revista de la sociedad química de Perú **74**(2): 85-99.
- Repo-Carrasco R., Espinoza C. & Jacobsen S. (2003). "Nutritional value and use of the Andean crops quinoa (*Chenopodium quinoa*) and kaniwa (*Chenopodium pallidicaule*)." Food reviews international **19**(1): 179-189.
- Repo-Carrasco R. & Serna L. A. (2011). "Quinoa (*Chenopodium quinoa*, Willd.) as a source of dietary fiber and other functional components." Ciencia é Tecnología de Alimentos **31**(1): 225-230.
- Ruales J. & Nair B. M. (1993a). "Content of fat, vitamins and minerals in quinoa (*Chenopodium quinoa*, Willd) seeds." Food Chemistry **48**(2): 131-136.
- Ruales J. & Nair B. M. (1993b). "Saponins, phytic acid, tannins and protease inhibitors in quinoa (*Chenopodium quinoa*, Willd) seeds." Food Chemistry **48**(2): 137-143.
- Sakač M., Torbica A., Sedej I. & Hadnađev M. (2011). "Influence of breadmaking on antioxidant capacity of gluten free breads based on rice and buckwheat flours." Food Research International **44**(9): 2806-2813.
- Santos Calderelli V. A., de Toledo Benassi M., Visentainer Vergílio J. & Matioli G. (2010). "Quinoa and Flaxseed: Potential Ingredients in the Production of Bread with Functional Quality." Brazilian Archives of Biology and Technology **53**(4): 981-986.
- Schoenlechner R., Siebenhandl S. & Berghofer E. (2008). Pseudocereals. Gluten-Free Cereal Products and Beverages. K. A. Elke & B. Fabio Dal. San Diego, Academic Press: 149-190.
- Tapia M. E., Morón C., Ayala G. & Fries A. M. (2000). Valor nutritivo y patrones de consumo. Cultivos andinos subexplotados y su aporte a la alimentación. M. E. Tapia. Santiago, Chile, FAO. Oficina Regional para América Latina y el Caribe.
- Veluppillai S., Nithyanantharajah K., Vasantharuba S., Balakumar S. & Arasaratnam V. (2010). "Optimization of Bread Preparation from Wheat Flour and Malted Rice Flour." Rice Science **17**(1): 51-59.
- Ward S. M. (2000). "Response to selection for reduced grain saponin content in quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.)." Field Crops Research **68**(2): 157-163.